

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Hugues CLÉMENT

Préparateur de physiologie générale et comparée,

Ancien externe des Hôpitaux de Lyon,

Chargé des fonctions de Médecin auxiliaire à l'Hôpital militaire 213 bis.

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA CENTRIFUGATION EXPÉRI-
MENTALE EN BIOLOGIE.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 19^e Avril 1917, devant la Commission d'examen

MM. R. DUBOIS . . . *Président.*

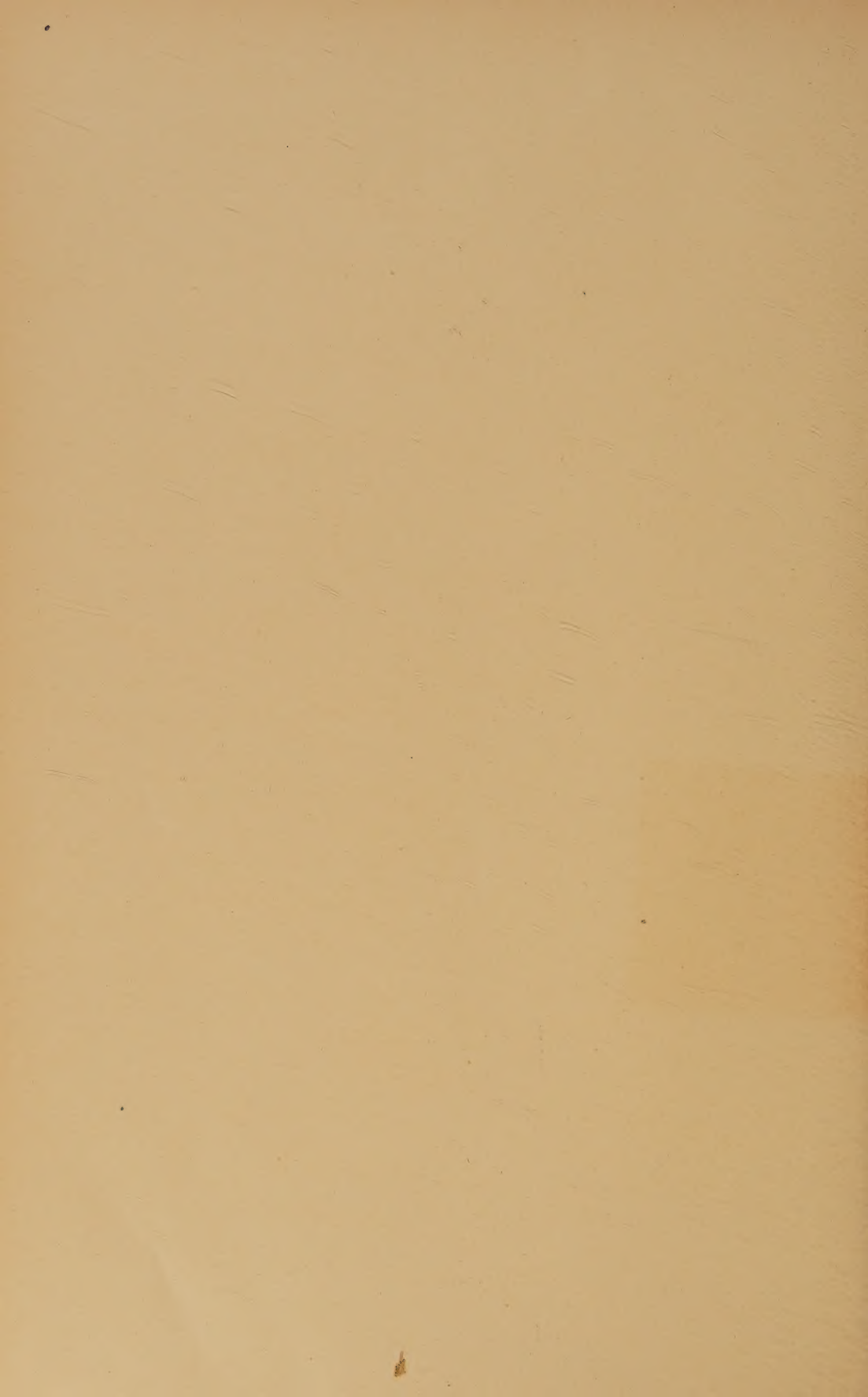
A. RICHE . . . *Examineurs.*

J. RAY . . .

LYON

A. REY, IMPRIMEUR-ÉDITEUR DE L'UNIVERSITÉ

4, RUE GENTIL, 4



THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE LYON

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Hugues CLÉMENT

Préparateur de physiologie générale et comparée,

Ancien externe des Hôpitaux de Lyon,

Chargé des fonctions de Médecin auxiliaire à l'Hôpital militaire 213 bis.

1^{re} THÈSE. — CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DE LA CENTRIFUGATION EXPÉRI-
MENTALE EN BIOLOGIE.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 19 Avril 1917, devant la Commission d'examen



MM. R. DUBOIS . . . *Président.*

A. RICHE . . .) *Examineurs.*

J. RAY . . .)

LYON

A. REY, IMPRIMEUR-ÉDITEUR DE L'UNIVERSITÉ

4, RUE GENTIL, 4

1917

UNIVERSITÉ DE LYON. — FACULTÉ DES SCIENCES

Doyen

M. DEPÉRET, *, I. , .
Membre de l'Institut.

Assesseur

M. VIGNON, *, I. .

Professeur honoraire

M. VESSIOT, I. .

Professeurs

MM. BARBIER, O. *, I. . *Chimie générale.*
Correspondant de l'Institut.
GOUY, *, I. . *Physique.*
Membre de l'Institut.
GÉRARD, *, I. , . *Botanique.*
DUBOIS, *, I. , , G. O. , O. . *Physiologie générale et comparée.*
DEPÉRET, *, I. , . *Géologie.*
Membre de l'Institut.
KOEHLER, *, I. . *Zoologie.*
OFFRET, I. . *Minéralogie théorique et appliquée.*
VIGNON, *, I. . *Chimie appliquée à l'industrie et à l'agriculture.*
X. *Mathématiques appliquées*
DULAC, *, I. . *Mathématiques pures.*
LE VAVASSEUR, I. . *Calcul différentiel et intégral.*
MASCART, I. . *Astronomie approfondie.*

Professeurs adjoints

MM. VAUTIER, I. . *Physique.*
RIGOLLOT, I. . *Physique industrielle.*
COUTURIER, I. . *Chimie appliquée.*
VANEY, I. . *Zoologie.*

Chargés de cours complémentaires et Maîtres de conférences

MM. RICHE, I. . *Géologie.*
COUVREUR, I. . *Physiologie.*
RAY, I. . *Botanique.*
THOVERT, I. . *Physique.*
LOCQUIN, A. . *Chimie générale.*
X. *Astronomie.*
MEUNIER, I. . *Technologie des industries chimiques.*
ROMAN, I. . *Géologie et minéralogie agricoles.*
CHIFFLOT, I. . *Géographie botanique.*
WIERNBERGER, A. . *Mathématiques générales.*
MAYET, I. . *Anthropologie.*
GUILLIERMOND, A. . *Botanique agricole.*
PELOSSE. *Sériciculture.*

Secrétaire

M. BAYLE, I. .

AVANT-PROPOS

Au moment où souffle en France un grand vent d'utilitarisme, où beaucoup considèrent les sciences appliquées comme une panacée universelle, certains nous reprocheront peut-être d'avoir fait œuvre vaine, en expérimentant le plus souvent d'une façon spéculative.

Sans diminuer en rien le mérite des recherches tendant à un but pratique, il faut cependant reconnaître ceux de la science pure. C'est dans ses acquisitions que viennent toujours puiser les théoriciens en quête de découvertes à exploiter. Chez elle, pas d'ostracisme ! du plus humble au plus savant, chacun peut apporter sa pierre pour la construction de l'édifice commun.

En science, tout s'enchaîne, et tel résultat d'apparence bien insignifiante sera peut-être, une fois complété par d'autres, le point de départ d'une acquisition précieuse ¹.

Cette pensée nous a constamment soutenu au cours de longs efforts. Nos peines seront pleinement récompensées si nous avons apporté une contribution (pour faible soit-elle) au patrimoine collectif.

¹ Le but supérieur de la science est d'alimenter, en augmentant sans cesse son niveau, l'immense réservoir d'où viennent en réalité toutes les inventions (Raph. Dubois, *in* Discours prononcé pour l'inauguration de la statue de Claude Bernard, Lyon, 28 octobre 1894).

*
* *

Ce travail sort essentiellement du laboratoire de physiologie générale et comparée de l'Université de Lyon.

Non seulement le professeur Raphaël Dubois nous y accueillit avec une bienveillante cordialité, mais encore, il voulut bien faire de nous son assistant, puis son préparateur.

Le peu que nous savons, comme Physiologie générale et comparée, nous le lui devons.

Digne continuateur des Claude Bernard, des Paul Bert, le professeur Raphaël Dubois fut pour nous un maître, dans toute l'acceptation du terme : celui qui sait en un mot faire aimer la science et inspirer à ses élèves le désir de continuer son œuvre, de marcher sur ses traces :

Mais,

Longo sed proximo intervallo

hélas !

Pendant cinq années de contacts quotidiens, nous avons contracté envers M. Couvreur, chargé d'un cours complémentaire, chef de travaux à la Faculté, une bien lourde dette de reconnaissance. Que de fois n'avons nous pas eu recours à son obligeance et à son sens critique si averti. Son contrôle autorisé nous fut des plus précieux pour mener à bien de nombreuses expériences.

Enfin notre cordial souvenir va à notre excellent collègue et ami Marchand, dont la thèse récente fut très remarquée¹. Son dévouement à l'humanité², à la science et à notre maître

¹ *Recherches physiologiques sur la Moule comestible de Provence (Mytilus Gallo-provincialis L.) et sur la Mytiliculture en Méditerranée.* Lyon, juillet 1916.

² Médecin auxiliaire de la marine, soigne les cholériques serbes, les typhiques, etc., à Sidi-Abdallah.

commun, le professeur Raphaël Dubois, reçut d'ailleurs récemment un hommage public.

*
**

Ainsi que nous l'avons rappelé à diverses reprises dans ce travail, l'explosion de la guerre, notre mobilisation, nous empêchèrent de parachever, de multiplier certaines expériences, comme il était dans notre intention de le faire.

*
**

Il y a sept ans, au début de ces recherches¹, nous pensions étudier simplement les troubles produits par la force centrifuge sur les diverses fonctions des vertébrés. Mais bientôt, la complexité des résultats obtenus nous incitait à modifier notre plan, à l'élargir, et à ne considérer les phénomènes observés sur les animaux supérieurs que comme un chapitre de ce travail.

Nous examinerons donc successivement les effets de la centrifugation sur :

- 1^o *Les solutions et leur passage au travers des membranes ;*
- 2^o *Les cellules : contenant et contenu ;*
- 3^o *Les éléments sexuels, les œufs et les graines ;*
- 4^o *Les nymphes ;*
- 5^o *Les animaux adultes : invertébrés et vertébrés.*
- 6^o *Les végétaux : inférieurs et supérieurs,*

et chercherons les conclusions de physiologie générale se dégageant de cet ensemble de faits.

¹ H. Clément, *Société Linnéenne de Lyon*, T. LX, p. 147.

Toutefois, avant de développer ce plan, il nous semble bon de dire quelques mots sur les centrifugeuses, puis de résumer les résultats obtenus par nos devanciers grâce à ces appareils.

Si quelques omissions bibliographiques¹ existent, nous les regrettons vivement et nous nous en excusons.

Rien n'a été négligé pour obtenir un tout complet. En plus des recherches ordinaires exécutées pour ce genre de travail, nous écrivîmes aux Universités du monde entier², sollicitant de leurs laboratoires la liste des travaux qu'ils auraient pu produire sur la question.

Mais, gêné par la difficulté des relations postales étrangères, il ne nous fut pas toujours loisible de vérifier certains points.

¹ On trouvera dans un chapitre spécial tout ce qui touche à la centrifugation biologique proprement dite, tandis que les autres références sont au bas des pages.

² Moins les pays austro-allemands.

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE
DE LA
CENTRIFUGATION EXPÉRIMENTALE
EN BIOLOGIE

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE DES MACHINES A CENTRIFUGER
HISTORIQUE DES TRAVAUX PUBLIÉS SUR LA QUESTION

I. HISTORIQUE DES MACHINES A CENTRIFUGER

Lorsqu'un mobile tourne autour d'un centre, il tend à s'en éloigner, obéissant ainsi à la force centrifuge.

Si cette force est connue, utilisée depuis longtemps¹, si depuis longtemps des dispositifs très ingénieux furent institués pour la démontrer², les applications industrielles et surtout scientifiques en découlant sont d'acquisition récente.

¹ La fronde par exemple.

² En voici un fort simple : lorsqu'on fait tourner une roue autour d'un essieu perpendiculaire au sol, les molécules de la roue tendent toutes à s'échapper par des tangentes à leur cercle de rotation. Seule la cohésion s'oppose à cette tendance. Mais, si l'on verse de l'eau sur cette roue, on voit les gouttes s'échapper, comme le feraient les particules du bois si elles étaient libres, ou si elles parvenaient à vaincre la cohésion qui les unit. Cette dernière hypothèse se réalise lorsqu'une meule éclate par excès de vitesse.

Les renseignements historiques sur la question sont rares¹ ; aussi exposerons-nous, en quelques lignes, comment furent inventées les machines à centrifuger, et comment elles furent petit à petit perfectionnées.

La tradition rapporte qu'un ouvrier nommé Pentzoldt, employé dans une manufacture de pianos, voulut éviter à sa femme les efforts nécessaires pour sécher le linge par torsion. S'inspirant du panier à salade, il construisit donc avec de petits câbles métalliques un treillis destiné à recevoir le linge et lui imprima un mouvement de rotation.

Seyrig, frappé par l'idée de son aide, la mit au point. L'essoreuse prit alors naissance sous forme d'un tambour de cuivre, rapidement entraîné autour d'un axe vertical, grâce à une combinaison de manivelles et de poulies.

Bientôt Caron perfectionna le tout, en substituant aux poulies un jeu d'engrenages.

Actuellement le système est à peine modifié. Une des machines employées, l'essoreuse, comprend un bol perforé, parfaitement équilibré, monté sur billes et mis en mouvement dans une enceinte de fonte, soit à bras, soit par un moteur quelconque.

Il s'agit là d'appareils industriels dont le but est toujours de séparer un solide du liquide l'imprégnant.

Les laboratoires scientifiques utilisent un autre genre de machines : les centrifugeuses. Le mécanisme reste identique, mais le bol perforé disparaît. Il ne s'agit plus de sécher un produit, mais le plus souvent de recueillir des précipitations ténues, que les meilleurs filtres auraient grand'peine à retenir.

On peut ramener à trois types tout ce qui s'est fait dans cet ordre d'idées.

Le premier en date, fut une toupie à grand axe, dont le

¹ Les Encyclopédies les plus récentes, Larousse par exemple, ne donnent aucun détail de ce genre.

plateau formé d'une boîte creuse contenait des tubes à essais inclinés à 15 ou 20 degrés. Une corde brusquement tirée donnait la rotation voulue.

Malgré un montage à double cuvette conique, l'impulsion était de courte durée, et par suite du dispositif le précipité se formait mal.

Le second, encore en usage, comprend essentiellement un axe portant une armature en forme de croix grecque. A chacun des quatre bras est suspendu un récipient articulé de manière à pouvoir passer de la position verticale (arrêt) à la position horizontale (marche). Des roues dentées plus ou moins compliquées transmettent au système le mouvement imprimé à une manivelle.

De nos jours, les appareils sérieux sont généralement constitués par un moteur électrique, dont l'axe monté à billes tourne verticalement et porte la couronne de tubes. Une enveloppe d'acier protège l'ensemble, tandis qu'un rhéostat permet l'obtention de vitesses variables¹.

Au cours de nos recherches, nous avons utilisé fréquemment ces centrifugeuses. Mais nous avons dû, pour mener nos expériences à bonne fin, créer un modèle spécial.

Ce modèle répond à un double but : obtenir des vitesses faibles d'une gradation très progressive ; puis pouvoir marcher plusieurs semaines consécutives soit à l'air libre, soit dans une étuve chauffée jusqu'à 40-45 degrés.

Le moteur du type vertical sort des usines Siemens. Il peut, par simple inversion des pôles, tourner dans un sens ou dans un autre. L'axe repose à sa partie inférieure sur une butée à billes. La lubrification des roulements se fait par deux petits

¹ Très récemment, Copaux eut l'ingénieuse pensée d'enfermer la machine dans un vase métallique où l'on peut faire le vide.

Le rendement d'une centrifugeuse ordinaire est en effet de beaucoup diminué par la résistance de l'air. La méthode optique de Drysale montre qu'en supprimant ce facteur on augmente la vitesse de rotation d'environ 50 pour 100. Un appareil tournant à l'air libre à 4.100 tours, atteint dans le vide 6 000 tours (*Catalogue de la maison Neveu, Paris*).

Stauffer. Si l'on a soin d'utiliser des graisses à point de fusion élevé¹ et de placer derrière les poussoirs des ressorts de faible tension, il ne se produit aucun encrassement. Nous avons pu laisser tourner l'appareil pendant vingt-six jours consécutifs sans ennui aucun. Il aurait même continué à fonctionner aussi longtemps encore, les boîtes étant à ce moment pleines de graisse à moitié. Les balais de toile de cuivre rouge recuite donnent de bons résultats. On peut sans inconvénient leur substituer des charbons durs. Dans le cas de marches prolongées, il suffit de les tenir suffisamment longs.

La partie supérieure de l'axe du moteur, taillée à quatre pans sur quelques centimètres, se termine enfin par une vis.

Ce dispositif permet de changer très rapidement l'armature support des vases à centrifuger.

Cette armature, en feuillard d'acier de 7 millimètres environ d'épaisseur, est, en effet, perforée au centre d'une lumière quadrangulaire jouant le rôle d'organe femelle par rapport à l'axe. Une fois en place, elle ne peut osciller, maintenue qu'elle est par une rondelle et deux écrous.

La grande amovibilité du système permet un nombre considérable de supports pour un seul moteur.

Deux nous suffisent généralement. L'un porte des tubes, l'autre des capsules ovoïdes en tôle emboutie.

Susceptible de tourner bien des heures sans arrêt, cette machine nous fut précieuse, car, disons-le dès maintenant, le facteur temps joue un grand rôle dans l'étude des phénomènes provoqués par la force centrifuge.

Ainsi, une énergie totale E donnera des effets très différents suivant qu'elle aura agi pendant T , T^1 , T^2 , etc.

Dans certains cas, nous avons dû recourir à un troisième modèle, lorsqu'il faut entraîner des poids lourds.

¹ La meilleure, à notre avis, est celle fournie par la maison Hamelle sous le nom de « graisse rose ». Ce produit malaxé avec un peu de plombagine semble fort intéressant.

Modèle constitué par une simpleessoreuse de l'industrie à bol cloisonné en quatre secteurs par des planchettes.

Nos trois machines connues dans leur mécanisme, il nous reste à savoir leurs vitesses de rotation.

Le petit tableau ci-dessous nous les donne par minute pour chacune d'elles :

1 ^{re} MACHINE	2 ^e MACHINE	3 ^e MACHINE
—	—	—
1.250	300	225
1.800	400	450
2.200	450	900
2.600	500	1.800
3.400	600	»
3.900	670	»

Pour ne pas y revenir sans cesse, voici la formule qui permet de mesurer l'énergie produite par une centrifugation.

$$f = m (2 \pi N)^2 R.$$

R étant la distance en centimètres du centre de gravité à l'axe de l'appareil,

N, le nombre de tours à la seconde,

m, le poids en grammes de l'objet traité.

Le produit représente des dynes, on obtient des grammes en le divisant par 980.

Certains utilisent aussi la formule :

$$f = m \omega^2 R.$$

ω étant l'angle de rotation.

Les deux équations sont d'ailleurs semblables au fond, puisque $\omega = 2 \pi N$.

Pour être rigoureusement exacts, les calculs devraient tenir

compte, des centres de gravités nombreux dans une seule expérience. Mais on se contente d'un centre moyen.

Ainsi, lorsque nous étudions un cylindre de liquide, nous prenons simplement pour nos opérations le centre de gravité de ce cylindre.

Concrétisons tout ceci par l'exemple :

Soit une colonne liquide pesant 25 grammes, longue de 12 centimètres, centrifugée à 3.000 tours par minute au bout d'un bras de 15 centimètres.

Ce liquide aura donc subi une action égale à :

$$25 \times (6 \times 50)^2 \times 21^{(1)}.$$

$$\text{Ainsi } f = 25 \times 90.000 \times 21$$

$$f = 47.250.000$$

D'où pour avoir le résultat en grammes.

$$f = \frac{47.250.000}{980} = 47 \text{ kgs } 90.$$

II. HISTORIQUE DES TRAVAUX PUBLIÉS SUR LA QUESTION

Les applications scientifiques des centrifugeuses furent d'abord exclusivement chimiques. G. Meillère, chef des travaux de chimie de l'Académie de Médecine, étudia magistralement les emplois de la centrifugeuse au laboratoire.

Pour être ancien déjà², ce travail est des plus complets. Tous les usages courants s'y trouvent mentionnés.

Les voici résumés, d'après l'auteur :

1° Séparation du fer et du manganèse (analyse des bauxites) : le fer est dosé à l'état de phosphate en liqueur acétique.

¹ Afin de simplifier considérons 2π comme = 6.

² *Bulletin de la Société Chimique de Paris*, 3^e série, t. XXI, p. 513.

2° Précipitation de l'acide phosphorique à l'état de phosphomolybdate, à froid par conséquent, sans entraînement d'acide molybdique : pesée ou détermination volumétrique.

3° Détermination rigoureuse du plâtrage des vins.

4° Dosage des sulfates par méthode volumétrique, séparation rapide des précipités de sulfate et de chromate de baryte ; réduction par le sulfate ferroso-ammonique et titrage définitif au permanganate.

5° Hydrologie : séparation de la chaux à l'état d'oxalate et évaluation volumétrique par le permanganate.

6° Lavage et pesées des sulfures métalliques, des oxydes et phosphates de fer, de zinc, de manganèse, d'alumine, d'urane, des fluosilicates et autres précipités gélatineux.

7° Dosage des sucres réducteurs par pesée du précipité d'oxydure ou de cuivre réduit (Meillère et Chapelle).

8° Réduction du chloroplatinate de potasse par l'aluminium et pesée du platine.

9° Réduction des composés mercuriques par le chlorure d'étain et pesée du mercure.

10° Analyses cliniques (urine, lait, liquides pathologiques) :

a) Séparation rapide de l'acide urique à l'état d'urate d'ammoniaque ou d'urate cuivreux ;

b) Dosage des nitrates par le nitrate d'argent ;

c) Séparation de l'albumine totale par l'acide trichloracétique ; séparation de la sérine seule dans le liquide privé de globuline par le sulfate d'ammoniaque ;

d) Séparation rapide des sulfates dans les urines et dosage ultérieur du soufre sulfoconjugué ;

e) Analyse du lait par le procédé Adam : précipitation de la caséine dans un liquide hydro-alcoolique par l'acide trichloracétique.

Plus récemment, en décembre 1905¹, le Dr Morel, alors

¹ *Etude sur les Centrifugeuses de la maison S. Maury*, éditée par ce constructeur, 7, quai Claude-Bernard, à Lyon.

professeur agrégé à la Faculté de Médecine de Lyon, attirait l'attention des savants sur l'amélioration des dosages grâce à la centrifugation.

Cette méthode¹, sur laquelle nous n'avons pas à insister, procure à ceux qui l'emploient une grande précision dans les résultats et un gain de temps considérable.

Il serait vain de multiplier les citations d'ouvrages ou de notes relatives à cette question. Tous proclament l'excellence de la force centrifuge pour réunir les précipités les plus fins, décanter la liqueur surnageant, laver les culots obtenus et recueillir des corps exempts d'impuretés, prêts à être pesés².

Mais il nous reste à voir comment certains physiologistes utilisent la force centrifuge au point de vue biologie expérimentale : car, pour juger nos efforts, il importe de connaître d'abord ceux de nos devanciers.

*
* *

Au début de cette étude, un coup d'œil rapidement jeté sur les revues et les journaux scientifiques les plus répandus nous laissa croire à la nouveauté complète du sujet choisi.

Petit à petit, en dépouillant les bulletins étrangers, nos opinions se modifièrent : un certain nombre d'expérimentateurs utilisaient la force centrifuge bien avant nous.

Aujourd'hui que nous possédons une vue d'ensemble sur la question, nous constatons avec satisfaction combien nos essais diffèrent des autres.

Les recherches des auteurs étudiés s'étendant parfois sur plusieurs années ; il nous semble préférable de les grouper par sujets que de les classer chronologiquement.

■
* *

Afin de permettre au lecteur une comparaison plus facile de

¹ *Précis de Technique chimique*, par le Dr A. Morel (collection Testut).

² Cf. *Index bibliographique*, nos 4, 5, 63, 66, 69, 70.

nos expériences avec celles d'autrui, nous conserverons dans cette analyse le plan indiqué en tête de ce mémoire.

Comme transition, pour ainsi dire, entre les travaux des chimistes et ceux des biologistes, viennent un certain nombre d'essais très voisins des séparations de précipités. Les voici :

Lorsqu'un animal a été privé par hémorragie de la plus grande partie de son sang, au point qu'il ne peut plus être restauré par une transfusion d'eau salée, on le sauve en mélangeant à l'eau salée une certaine proportion de globules rouges dépouillés par centrifugation et par lavages répétés de tout sérum¹.

Le professeur Hambürger, de Groningue, eut l'amabilité de nous adresser ses publications.

Sa communication sur l'emploi de la force centrifuge en physiologie² résume ses travaux antérieurs.

Ils³ eurent presque tous pour but de précipiter des globules sanguins afin d'étudier leurs modifications inhérentes à tels ou tels facteurs.

A lui nous devons aussi l'hématocrite réinventé par Hedin⁴.

Toujours dans le même ordre d'idées, M. Grand fit à Christiana, en 1912, de très intéressantes recherches sur le *plancton*. Grâce à la force centrifuge, il put dresser une liste complète des espèces qu'il renferme ; d'ailleurs, le « Conseil permanent international pour l'exploration de la mer » réunit ces documents en un fascicule spécial n° 62⁵.

I. Effets de la force centrifuge sur les membranes et les solutions. — Le Bry de Bruin⁶, Jacques Duclaux expérimentèrent sur la concentration de solutions salines et trou-

¹ Hédon, *Précis de Physiologie*, 6^e édition (collection Testut).

² *Congrès international de Physiologie d'Heidelberg*, 1907.

³ Cf. *Index bibliographique*, Hambürger, 22 à 29.

⁴ Cf. *Index bibliographique*, n° 30.

⁵ Edité à Copenhague. Cf. *Index bibliographique*, 18.

⁶ Cf. *Index bibliographique*, 40.

vèrent, comme nous-même, une augmentation de densité des couches les plus profondes.

Hambürger construit un osmomètre basé sur l'emploi des centrifugeuses¹.

II. Effets sur la cellule. — Ersnst-Willy Schmidt² fait agir des forces de 1.593 à 1.949 grammes sur des algues *Spirogyres*³.

Avec les plus fortes, il constate un déplacement du chromatophore et du noyau qui, cependant, restent distincts et conservent leur position relative. Des filaments plus ou moins ténus, relient le protoplasme au chromatophore. Petit à petit, ce dernier revient en place.

L'auteur ne peut affirmer si vraiment les filaments ont un rôle actif.

III. Effets sur les éléments sexuels : les Œufs et les Graines. — Ce chapitre constitue à lui seul la presque totalité des recherches entreprises par nos devanciers ;

Gurwitch⁴ montre que la force centrifuge change du tout au tout le protoplasme des œufs d'Echinodermes. Au lieu d'être finement granuleux, homogène, il présente un aspect vésiculeux. Les *figures karyokinétiques* sont déchiquetées. Malgré cela, les choses rentrent dans l'ordre et la segmentation commence.

Lillie⁵ expérimente sur des œufs d'annélides avant leur division. Il voit les substances cytoplasmiques se stratifier, sans destruction de la polarité ni de son axe. Le premier fuseau se forme normalement. Aussi, pour cet auteur, la polarité

¹ Cf. *Index bibliographique*, 25.

² Cf. *Index bibliographique*, n° 64, et 2 (1914, A. Maillefer).

³ On trouvera plus loin l'exposé de nos travaux relatifs à la même question.

⁴ Cf. *Index bibliographique*, n°s 19, 20, 21, et n° 2 (1915), Sur la destruction du protoplasme de l'œuf des Echinodermes (Henneguy).

⁵ Cf. *Index bibliographique*, n°s 41 à 44, et n° 2. Expériences concernant les phénomènes élémentaires du développement embryonnaire chez le Chetoptère. (Cuenot, 1906), (Robert, 1908).

serait sous l'influence d'une force interne gouvernée par le noyau, plus puissante que la pesanteur et moins énergique que la centrifugation.

D'autre part, le pôle végétatif¹ correspondrait au point de fixation de l'œuf à l'épithélium ovarien.

Au sortir de la centrifugeuse, l'œuf présente, pour Lillie, une série de couches susceptibles de s'orienter différemment selon le point d'action de la force utilisée. Les globules polaires déterminent seuls l'axe de segmentation, et ils ne sont nullement altérés par une rotation même rapide.

Soit seul, soit en collaboration, Morgan étudia très longuement les modifications des œufs consécutives à la centrifugation. Voici quelques-unes de ses conclusions : chez l'Oursin on peut chasser le noyau, les granulations pigmentaires au travers du protoplasme de l'œuf sans changer les relations polaires et sans arrêter tout développement.

Le noyau, cependant, ne revient pas à sa place. Son nouvel emplacement détermine un plan de clivage. Puis la *karyokinèse* mélange à nouveau les parties constitutives du protoplasme.

Il doit donc exister des substances formatives, invisibles, susceptibles de résister au traitement subi². Morgan centrifuge à grande vitesse des œufs d'Oursin *Arbacia* et constate qu'ils offrent alors trois zones distinctes, et que si on les place dans un liquide approprié, ils tombent au fond sans s'orienter d'un côté plutôt que d'un autre.

Au début, la segmentation dépend de la stratification provoquée, puis les cellules se reforment comme chez les œufs normaux. De toutes ses remarques, il arrive à concevoir les substances séparées par force centrifuge comme n'étant pas

¹ Cf. *Index bibliographique*, n°s 41, 44 et n° 2 (1908, Robert) et n° 2 (1906, L. Cuenot).

Cf. *Index bibliographique*, n°s 52 à 61 ; et *Index bibliographique*, n° 2 (1904, Prénant) ; (1906-1907, Dubuisson) ; (1908, de Varigny) ; (1909-1910, Dubuisson) (1910, Henneguy).

organo-formatrices. Le facteur déterminant le plan médian de l'embryon apparaît comme dynamique et non pas comme matériel¹.

Poursuivant ses études sur les Oursins, Morgan nous a encore appris que si l'on centrifuge l'œuf de cet animal, de façon à stratifier les substances dont il est constitué, les micromères apparaissent sans aucun rapport avec la centrifugation. Leur formation s'exécute donc librement.

Morgan et Spooner² cherchèrent à déterminer pourquoi les micromères se localisent. La stratification ne peut produire ce phénomène, puisqu'elle se dessine n'importe comment d'après l'orientation des œufs centrifugés.

Ces auteurs démontrent que les micromères sont identiquement placés dans les œufs normaux et ceux soumis à l'expérimentation, c'est-à-dire du côté opposé au micropyle.

Dans les deux catégories d'œufs, la gastrulation se fait au pôle micromérique. L'embryon semble se différencier aussi bien si les matériaux de l'œuf occupent une position stratifiée que s'ils sont placés d'une manière normale³.

Nous devons encore à Morgan une série d'études cytologiques des œufs centrifugés. Les recherches ont été faites sur le *Cumingia telloides* (Mollusque), le Cérébratulus, l'Hydatinale et un Téléostéen non spécifié. Dans l'œuf de *Cumingia* centrifugé, les substances huileuses se rassemblent à l'un des pôles, le pigment et le vitellus à l'autre. Ces œufs donnent cependant en général des larves normales. Les anomalies de développement ne sont pas dues à la désagrégation des matériaux visibles, mais à la difficulté qu'éprouvent les noyaux à effectuer leurs déplacements normaux pendant la segmentation et à d'autres facteurs mal déterminés⁴.

¹ Cf. *loc. cit.*

² Cf. *Index bibliographique*, 58, et n° 2 (1909-1910, Dubuisson).

³ Cf. *Index bibliographique*, n° 52 à 61, et, pour plus de détails, les analyses de Dubuisson, *Index bibliographique* n° 2 (1909).

⁴ Cf. *Index bibliographique*, nos 15, 16, 31, 32, 33, 34, 37, et n° 2 (1906) (Delage, 1910).

Dans l'œuf centrifugé de Cumingia, le micromère peut enfermer toute la substance huileuse, tout le vitellus ou tout le pigment sans que ses dimensions et ses rapports avec le pôle de l'œuf soient changés. La nature des cellules n'est donc pas déterminée par des différences régionales, mais par la *figure karyokinétique* et les matériaux qui l'entourent. Les théories relatives à la division cellulaire attribuant au noyau ou à sa chromatine un rôle prépondérant et celles admettant les différences cytoplasmiques régionales en dehors du fuseau, ne tiennent pas compte du facteur essentiel de la division cellulaire, c'est-à-dire de la figure karyokinétique.

Les expériences de l'auteur sur les œufs de Cérébratulus, correspondent à celles de Lillie sur les œufs de Chætopéteus. D'après lui, les asters peuvent être entraînés passivement à travers le cytoplasma, sans se déformer, ils se comportent donc comme un corps solide, ce qui prouve qu'ils ne peuvent pas être considérés comme résultant de forces émanant du centrosome.

Ces travaux nous apprennent aussi que les œufs de Téléostéens ne peuvent tourner librement que dans leur membrane; ils s'orientent toujours de la même manière lorsqu'ils sont centrifugés, le germe dirigé vers l'extérieur du centrifugeur. La pesanteur est sans action sur le développement de l'embryon. Si les œufs sont centrifugés avant d'être fécondés, on observe dans la plupart d'entre eux la pénétration de plusieurs spermatozoïdes. Il se produit alors souvent à côté du blastodisque, des petits amas de *cytoplasmas microblastodiques* renfermant un spermatozoïde, qui peuvent présenter un commencement de segmentation, mais ne donnent jamais d'embryons? Les œufs centrifugés et les œufs polyspermiques donnent souvent des embryons normaux dont le mode de formation ne peut s'expliquer par la théorie de la concrescence de His¹.

Les Batraciens furent fréquemment utilisés par Morgan.

¹ Cf. *Index bibliographique*, n°s 52 61, et n° 2 (1904, Renault); (1906-1907, Dubuisson); (1908, de Varigny); (1909-1910, Dubuisson); (1910, Henneguy).

Ce dernier, en centrifugeant à 1.600 tours des œufs de *Rana sylvestris* put démontrer que la cavité blastocélienne n'est pas indispensable à l'ontogenèse¹.

Des œufs de Crapauds² traités pendant trois minutes et des œufs de Grenouilles traités pendant sept minutes à 1.600 tours prennent une zone claire de plus en plus grands, tandis que les pigments se rassemblent à un pôle. Si la centrifugation a lieu de suite avant ou après fécondation, les phénomènes sont très nets et démontrent que le pigment noir réparti en une zone sous-équatoriale n'agit pas comme substance formative.

Parallèlement à ces études sur les œufs d'Oursins, M. Clendon³ en entreprend sur ceux des Grenouilles. Dubuisson résume ainsi ses travaux :

L'œuf non segmenté d'*Acris grillus* ou de *Rana pipiens* soumis à une force centrifuge 2.771 fois plus grande que la pesanteur, se sépare en trois couches : 1° une couche centripète grasseuse et jaunâtre ; 2° une couche moyenne protoplasmique et translucide ; 3° une couche pesante de vitellus colorée par les granules de pigment noir. Par des méthodes cytologiques et microchimiques, il fut prouvé que ces couches étaient formées de parties presque pures. La couche moyenne contient le noyau ou le fuseau. En centrifugeant de la substance ovulaire en masse, on put vérifier ces faits par des méthodes purement chimiques. Les résultats montrèrent que les différences physiques et chimiques peuvent rendre compte des anomalies observées dans le développement des œufs centrifugés sans avoir besoin d'admettre une lésion protoplasmique.

Les œufs furent centrifugés à différents stades depuis le gonflement de la couche gélatineuse jusqu'au stade à huit cellules. Les figures miotiques étaient comprimées dans la direction de

¹ Cf. *Index bibliographique*, n° 52 à 61.

² Cf. *Index bibliographique*, n° 52 à 61 et *Influence de la force centrifuge sur les œufs de Grenouilles*, in n° 2 (1910, Goldsmith).

³ Cf. *Index bibliographique*, n° 47 à 51, et *Index bibliographique* n° 2 (1903, Dubuisson. F. Vles) (1910, M. Goldsmith).

la force. Cet effet semble dû à la compression du réseau alvéolaire, d'un côté par la couche grasse, de l'autre par la couche vitelline. La compression de la partie protoplasmique de l'œuf peut déterminer l'orientation verticale du troisième clivage observée par Morgan.

Mac Clendon¹ constate qu'une force supérieure à environ 6.000 fois la pesanteur au bout de deux minutes stratifie les œufs d'Oursins en quatre couches.

1° La plus éloignée du centre de rotation comprend des corpuscules du vitellus et des granulations pigmentaires rouges.

2° La suivante contient des corpuscules vitellins sans pigments.

3° Dans la troisième, fluide, transparente, se trouve le noyau.

4° La dernière offre un aspect très opaque. En général, les couches centripètes sont composées de cristaux gras et de protéides; les couches centrifuges renferment un pigment lipochrome, beaucoup de cristaux gras, un peu de lécithine et des protéides.

La centrifugation produit peu de troubles.

Grâce à la force centrifuge, Lyon² démontre sur les œufs d'*Asterias* qu'il n'existe aucune différence entre les maturés et les non maturés.

Tandis que la fécondation abaisse rapidement la densité des œufs de *Chætopterus*, elle ne produit rien chez ceux d'*Arbacia*.

Ayant fait agir des forces 6.000 fois plus grandes que la pesanteur, Lyon constate dans les œufs traités un certain nombre de couches, de teinte et de réfractions différentes variant avec les espèces.

Il voit que la segmentation débute par le pôle le moins

¹ Cf. *Index bibliographique* n° 41 et 53 et n° 2 (1909, Dubuisson. F. Vles); (1910, M. Goldsmith).

² *Index bibliographique*, n° 45 et 46, et *Index bibliographique*, n° 2 (1907, Dubuisson, 1908).

dense, et que la centrifugation semble déterminer sa direction.

Les œufs d'*Ascaris megalocaphala* fournirent des matériaux d'études à plusieurs expérimentateurs, entre autres à Boveri¹ et Miss Mary Hogue².

Pour ces derniers, il y a stratification des inclusions de l'œuf par la centrifugation, les particules vitellines vont vers l'axe de rotation et les granules plus lourds du côté opposé, mais les chrosomes ne sont pas influencés.

La division est sans rapport avec la disposition des inclusions, en sorte qu'on trouve tous les modes de distribution anormale, entre les deux blastomères du vitellus et des granules, suivant l'orientation de chaque œuf relativement à l'axe de rotation; c'est seulement lorsque la vitesse de rotation est rapide et agit tout le temps de la division, que presque toujours le fuseau se dispose parallèlement à la stratification, donnant deux blastomères à distribution égale, probablement par suite d'un aplatissement et suivant la règle de Hertwig, mais encore dans ce cas, si la centrifugation est interrompue un peu avant la division, l'œuf reprend sa forme et le fuseau sa position quelconque par rapport aux inclusions. D'autre part, grâce à une forte centrifugation commencée avant et poursuivie pendant la formation du fuseau de la première division, il peut se former une balle granuleuse à l'extrémité distale du sillon alors perpendiculairement à l'axe de la rotation et à la stratification de l'œuf, balle que Boveri attribue à la résistance, à la pénétration du sillon de la calotte granuleuse. Mais la proportion des œufs à balle est très variable.

Boveri pense que la balle ne se produit que dans le cas où l'axe ovulaire se trouve exactement dans la direction de la force centrifuge; quand il n'y a pas cette symétrie parfaite, le chemin détourné du sillon ne se réaliserait que d'un côté et

¹ Cf. *Index bibliographique*, n° 6, et n° 2 (1910, Michel).

² Cf. *Index bibliographique*, n° 35, et n° 2 (1910, Michel).

la balle, incomplètement séparée, rentrerait ultérieurement dans l'autre blastomère.

Dans un œuf centrifugé, plus le fuseau est excentrique, plus grande est la masse libérée en une balle. Dans les œufs faiblement centrifugés, malgré la disposition variable des inclusions par rapport au fuseau et, par suite, leur répartition quelconque entre les deux premiers blastomères animal et végétatif (même au point qu'elle peut y être intervertie), le développement ne s'en poursuit pas moins normalement, fait déjà constaté par d'autres auteurs sur d'autres animaux; ces inclusions ne sont donc en rien des substances organo-formatives et il doit y avoir dans l'ovoplasme une polarité invisible indépendante. Mais les œufs fortement centrifugés ont presque toujours un développement anormal, qu'ils soient à balle ou sans balle. Ce développement anormal tient à l'aplatissement par centrifugation qui le fait débiter par deux blastomères méridiens équivalents; la seconde division se faisant encore dans le même plan, il en résulte pour le stade 4, au lieu de la forme terminale en T, une file de cellules qui, ensuite, se recourbe, puis se ferme en anneau, pour aboutir finalement à la forme rhombique ordinaire; alors la segmentation devient variable et irrégulière¹.

Conklin² eut recours à la centrifugation chez les Pulmonés d'eau douce pour déterminer le plus complètement possible l'organisation de l'œuf et son mécanisme de développement.

Entre la première maturation et le premier clivage, la centrifugation peut modifier la position des substances et celle des fuseaux de maturation, ainsi que le point de sortie des globules polaires, mais ne semble pas agir sur la position de l'axe ovulaire qui, par conséquent, serait déjà fixé, opinion émise précédemment par Lillie et Morgan.

Les effets nuisibles de la centrifugation augmentent de la

¹ D'après Aug. Michel, cf. *Index bibliographique*, n° 2, 1910.

² Cf. *Index bibliographique* n° 12, 13, et n° 2 (1910, Michel).

première maturation au premier clivage, depuis un développement ordinairement normal jusqu'à un développement toujours anormal.

Les résultats différents de la centrifugation sur les œufs de divers animaux pourraient s'expliquer par la proportionnalité des effets de la centrifugation au degré de différenciation. Les substances colorées ne sont pas organo-formatives et représentent de simples inclusions; car la centrifugation peut les localiser et même rejeter la substance grise sans troubler le développement. Au contraire, la substance claire est du protoplasme s'accroissant pendant le développement, mais pas encore différenciée avant la segmentation; cependant, puisque la polarité et la symétrie sont déjà établies auparavant, il y a peut-être quelques charpentes permanentes, non modifiées par la centrifugation comme le sont les substances visibles et pouvant ultérieurement présider à la régulation¹.

Garbowski², en expérimentant sur des œufs de *Paracentrotus lividus* et d'*Asterias glacialis*, a vu, dans la plupart des blastomères d'œufs d'Oursins, des centrosomes situés de l'un ou des deux côtés du noyau. Les phénomènes apparurent très nets par suite du déplacement des pigments jaunes sous l'influence de la centrifugation. L'auteur considère ces modifications du pigment comme des phénomènes vitaux. De toute cette étude très intéressante, il résulte que la distribution du pigment n'est aucunement en rapport avec la polarité de l'œuf. Ces données ont été acquises grâce à la force centrifuge.

Très récemment, Arthur Banta et Ross Acken Gortner au cours d'expériences sur les œufs de *Rana sylvatica*, trouvèrent par hasard que la force centrifuge peut, sous certaines conditions produire des larves douées de queues accessoires abdominales³.

¹ Cf. *Index bibliographique*, n° 2, 1910, Auguste Michel.

² Cf. *Index bibliographique*, n° 10, et n° 2, V. Delage.

³ Cf. *Index bibliographique*, n° 3.

Girgloff¹ constate qu'il existe des ressemblances entre la division de l'œuf comprimé et celle de l'œuf centrifugé. D'autre part, ceci est intéressant pour nous, il y a des ressemblances aussi avec les actions des produits chimiques et des basses températures.

Pour Browne², lorsqu'on centrifuge des spermatocytes de Notonecte, les divisions cellulaires restent normales.

Adrews, après expérimentation sur des graines de Ricin avec un poids de 4 kilogrammes environ, voit les composants se stratifier suivant leur densité.

Mais, dix-huit heures plus tard, ces graines mises à germer sont redevenues normales. Si la germination n'a pas lieu, rien ne reprend la disposition naturelle.

L'auteur étudie très sérieusement l'ordre dans lequel se réparent les tissus.

IV. Effets sur les nymphes.

V. Effets sur les animaux adultes. — Plusieurs physiologistes, entre autres Schwartz³, Aderhold⁴, Massart⁵ et Jensen⁶, en étudiant les Infusoires, trouvèrent que beaucoup possédaient, à l'instar de certaines bactéries, des propriétés géotactiques positives ou négatives.

Jensen, par exemple, démontra que les Paramécies viennent

¹ Cf. *Index bibliographique*, n° 17, cf. aussi, *Index bibliographique* n° 15 et n° 2 (Dubuisson, 1910).

² Cf. *Index bibliographique*, n° 8, 10 et 11, et *Index bibliographique* n° 2 (1910, Dubuisson); (1914 Henneguy).

³ F. Schwartz : Der Einfluss der Schwerkraft auf die Bewegungsrichtung von Chlamydomonas und Euglena (*Sitzungsberichte der Deutschen botanischen Gesellschaft*, vol. II, fasc. 2).

⁴ Aderhold : Beiträge zur Kenntniss richtender Kräfte beider Borvegung niederer Organismen (*Genaische Zeitschrift für Naturwissenschaften*, 1888).

⁵ Massart, Recherches sur les organismes inférieurs (*Bulletin Académie royale de Belgique*, 3^e série, t. XXII, 1891).

⁶ Paul, Jensen Ueber der geotropismus niederer Organismen (*Pflüger's Archiv*, vol. LIII, 1892).

à la surface du liquide. Nous avons personnellement constaté le même fait pour les Vorticelles.

Jusqu'à ces derniers temps, comme le dit Max Verworn¹, on se faisait une idée à moitié mystique de la cause qui produit les phénomènes géotactiques. A Jensen revient l'honneur d'avoir démontré que ce sont les différences de pression en des points de hauteurs diverses qui déterminent ces effets. En centrifugeant des Paramécies, il les vit s'accumuler à l'endroit de moindre pression, c'est-à-dire au sommet ou extrémité centrale du tube, d'où le nom de centrotaxie.

Personnellement, soit sur les Vorticelles, soit sur les Paramécies, nous avons obtenu cependant des résultats opposés. Les animaux furent bel et bien entraînés du côté périphérique contre le fond du tube². Les actions de Jensen ne furent donc ni assez vives, ni assez prolongées.

Withney³ constate sur les femelles d'*Hydatina senta*, centrifugées doucement avant la ponte, des œufs parthénogénétiques normaux. Le pourcentage des sexes n'a pas changé. Seule la mortalité se serait accrue.

VI. Effets sur les végétaux. — a) *Inférieurs*. Bezançon et de Joug⁴ concentrèrent des liquides contaminés par les microbes pour obtenir une recherche plus facile de ces infiniment petits.

b) *Supérieurs*⁵. Les expériences de Knight⁶ sont restées célèbres. Ce savant botaniste anglais démontra, grâce à la roue qui porte son nom, que la gravitation oriente les végétaux en raison de l'accélération de masse exercée sur les organes sensibles.

¹ Max Verworn, traduction Hedon, chez Reinwald, Paris 1900, p. 494.

² Nous verrons au chapitre VI que ces Infusoires ne furent point tués par cette précipitation.

³ Cf. *Index bibliographique*, n° 68 et n° 2 (1909, P. de Beauchamp).

⁴ Cf. Chap. VII, Sur les Végétaux.

⁵ Cf. *Index bibliographique*, n° 1 et n° 2 (Chalon, 1902).

⁶ Cf. *Index bibliographique*, n° 38.

Nous reviendrons d'ailleurs sur le détail de ces recherches au chapitre VII du présent mémoire.

Tels sont, brièvement résumés, les principaux travaux sur la centrifugation. Il en existe bien d'autres, mais qui entrent implicitement dans ceux-ci, car chaque auteur cite ses devanciers et fait siennes les conclusions l'intéressant, non controuvées par les faits.

Par cet exposé, le lecteur a pu se rendre compte que la plus grande partie des travaux signalés relèvent de la cytologie.

Pour intéressants que soient de semblables résultats, nous avons orienté différemment nos recherches. Seuls des spécialistes peuvent mener à bonne fin des études cellulaires si délicates.

Nous croyons délimiter assez bien le rôle de chacun en disant que nos essais furent le plus souvent macroscopiques et ceux de nos prédécesseurs microscopiques.

CHAPITRE II

EFFETS DE LA FORCE CENTRIFUGE SUR LES SOLUTIONS

ET LEUR PASSAGE AU TRAVERS DES MEMBRANES

Aucun phénomène vital ne peut se manifester sans la présence de l'eau. Sa diminution progressive entraîne le ralentissement de plus en plus grand des fonctions biologiques. « La molécule d'eau est l'enjeu de la partie où se jouent : la santé, la maladie, la vie et la mort¹. »

Mais, pour bien comprendre le rôle que l'on doit accorder aujourd'hui à l'eau, en physiologie, il est indispensable de connaître la conception récente de la substance vivante, ou *bioprotéon*, d'après les travaux du professeur Raphaël Dubois. Nous pouvons en donner ici une notion élémentaire en citant les passages qui s'y rapportent dans l'introduction de son livre sur *la Vie et la Lumière*².

D'après notre maître, « toute substance vivante est considérée comme étant à l'état de colloïde instable. Les tissus sont à l'état de *gels* et les plasmas à l'état de *sols*. »

« Le biocolloïde, comme tous les autres colloïdes est composé

¹ Raphaël Dubois, *Dictionnaire de Richet*, article sur : HYDRATATION (fonction d').

² *La Vie et la Lumière* (Biblioth. scientif. internationale, Paris, Alcan, 1914).

de particules, de granulations en suspension dans un liquide. Ce liquide, c'est l'eau qui, chez certains animaux, comme les Coelentérés, par exemple, peut représenter 98 pour 100 du poids du corps. Dans les muscles, dans le cerveau, on en trouve 750 à 760 pour 1.000, et dans les os et les cartilages seulement, en moyenne 500 pour 1.000. Sa proportion est donc en relation avec le degré d'activité du tissu considéré, sous le rapport de sa noblesse, pourrait-on dire. Abondante chez les sujets jeunes et robustes, elle diminue beaucoup avec la sénilité. J'ai démontré¹ que les propriétés vivifiantes de l'eau sont en rapport avec sa chaleur spécifique, qui est la plus élevée de celles de tous les liquides organiques neutres, et que tous ceux qui, par leur mélange avec elle, tendent à l'abaisser, ralentissent et entravent le fonctionnement physiologique. Ainsi s'explique l'activité toxique des alcools et des anesthésiques généraux, qui croît en sens inverse de leur chaleur spécifique; plus celle-ci est faible et plus le pouvoir osmotique des liquides aqueux auxquels ils sont mélangés diminue; or, on verra bientôt que les vacuolides sont comparables à de petits dialyseurs à l'intérieur desquels une certaine quantité d'eau peut être fixée par *absorption*.

« Autour des granulations vacuolidaires se trouve une atmosphère d'eau tenant en dissolution des corps à l'état cristalloïdal. Cette eau est à l'état d'*adsorption* et de *liquide intergranulaire*, plus ou moins abondant, suivant qu'il s'agit d'un *biosol* ou d'un *biogel* et aussi suivant diverses conditions physiologiques d'un même tissu. L'eau d'absorption, l'eau d'adsorption et l'eau intergranulaire constituent l'*eau d'hydratation* des tissus. Chez les organismes jeunes et sains, l'eau est retenue avec énergie et l'on doit dire alors que la *tension de dissociation* de l'eau et des tissus est faible : elle devient, au contraire, grande, quand la vitalité diminue sous l'influence

¹ Voir HYDRATATION (fonction d'), *Dictionnaire de Physiologie de Ch. Richet*, Paris, Alcan.

d'un empoisonnement, d'une maladie, de la sénilité, d'une cause quelconque d'affaiblissement, de déchéance ou de misère physiologique.

« Les vacuolides élémentaires forment les centres de ces atmosphères aqueuses. Elles possèdent, comme dans tout colloïde, des mouvements spécifiques variables, des charges électriques qui règlent leurs attractions ou leurs répulsions, soit à l'état d'équilibre physiologique, soit à l'état pathologique. En raison de leur innombrable quantité dans 1 millimètre cube, dans une cellule, ces granulations offrent des surfaces énormes aux phénomènes de tension superficielle et à toutes les modalités énergétiques qui peuvent en dériver. Enfin, à cause de la structure même des vacuolides, la superficie offerte aux phénomènes d'absorption, d'imbibition, de diffusion, d'osmose est colossale. C'est elles qui sont le siège d'élection des substances alimentaires ou toxiques. Dans leur plus grand état de développement, les vacuolides sont représentées par les leucites : chloroleucites, amyloleucites, etc. Il y a bien des années que j'enseigne que les leucites dérivent des vacuolides¹.

« Or, dans ces derniers temps, Pensa, Lewitsky, Fauré-Fremiet, Guilliermond, etc., ont fait dériver ces mêmes leucites des mitochondries². Ces mitochondries mises récemment à la mode par Benda ne sont bien évidemment pas autre chose que mes anciennes vacuolides, car deux quantités égales à une troisième sont égales entre elles.

« Les leucites sont constitués par une cavité entourée d'une membrane et c'est dans cette cavité ou vacuole que se fabriquent une foule de produits : pigments, amidon, etc., et que d'autres se détruisent. Les vacuolides sont, en général, beaucoup plus petites que les leucites, bien qu'on trouve entre les unes et les

¹ *Leçons de Physiologie générale et comparée*, p. 70 à 78. Carré et Naud, Paris, 1898. Masson, successeur.

² Voir *Comptes Rendus de la Société de Biologie*, t. LXXV, p. 1023, 1913.

autres toutes les tailles intermédiaires. On voit déjà par ce qui précède que l'importance considérable qui s'attache à ces formations est de nature à apporter une solution définitive, au point de vue statique et dynamique, à une foule de questions fondamentales, relatives au fonctionnement intime de la matière vivante

« Tout récemment, M. Mulon et d'autres auteurs ont bien montré l'universalité de ma conception vacuolidaire

« Entre les ultimes parties élémentaires figurées de la substance vivante et certaines granulations zymasiques, il n'y a pas de différence morphologique. Cela seul suffirait à justifier l'opinion que j'ai toujours soutenue, à savoir, que la zymase est encore quelque chose de vivant, mais on sait, en plus, que toutes les causes qui entravent, suspendent, arrêtent, favorisent le fonctionnement de la substance vivante agissent de même sur les zymases.

« En définitive, les cellules nous apparaissent comme des organismes très complexes renfermant une quantité considérable de particules élémentaires ayant chacune une ou plusieurs spécialités fonctionnelles et susceptibles, dans certains cas, de montrer des phénomènes de réversibilité sous de très légères influences, telles, par exemple, qu'une augmentation ou une diminution de concentration aqueuse, d'hydratation. Ces particules, faune élémentaire de la cellule animale, flore élémentaire de la cellule végétale, président aux phénomènes d'assimilation et de désassimilation, en un mot de nutrition, aussi bien qu'à ceux de reproduction. On peut les suivre et les voir à l'œuvre dans l'acte de la fécondation : les vacuolides sont les dépositaires de l'hérédité, de ce que j'ai appelé autrefois l'*énergie ancestrale*. Ainsi, à aucun moment, même avant la fécondation, on ne voit s'éteindre la lumière du Ver luisant : elle existe dans l'ovule, dans l'œuf fécondé, chez la larve à tous ses stades de métamorphose, chez la nymphe et chez l'Insecte parfait. Jamais depuis l'apparition du premier Ver luisant, ce flambeau de la vie ne s'est

éteint un instant. Il y a toujours eu assez de vacuolides photogènes pour assurer son rayonnement. On s'expliquerait difficilement ce fait qu'il y a dans un œuf d'Insecte assez de ces particules pour assurer le fonctionnement ancestral pendant de longs siècles d'innombrables lignées, si l'on ne savait que, d'une part, les vacuolides sont susceptibles de croissance et de multiplication, et que, d'autre part, leur volume initial est extrêmement petit.

« Avant d'être vacuolides, c'est-à-dire d'être pourvues de la petite cavité qui m'a fait leur donner ce nom *nettement caractéristique à la fois de leur structure morphologique et de leur mode de fonctionnement*, ces organites élémentaires sont à l'état de granulations de toutes dimensions.

« Les plus petites ne sont pas visibles, même à l'aide de l'ultra-microscope; mais on peut les faire apparaître, par exemple en les hydratant. On peut supposer que dans leur état de condensation le plus grand, leur volume peut être voisin de celui de la molécule. Or, les physiciens ont déterminé le volume de la molécule et, en s'en rapportant au nombre qu'ils donnent, on trouve qu'un cube de 1 millimètre de côté, quelque chose du volume d'un œuf de Ver à soie, contiendrait un nombre au moins égal au cube de 10 millions, c'est-à-dire de l'unité suivie de vingt et un zéros.

« L'un d'eux a calculé que si l'on devait les compter et que l'on détachât par la pensée 1 million à chaque seconde, on en aurait pour plus de deux cent cinquante millions d'années : l'être qui aurait commencé cette tâche à l'époque où notre système solaire ne devait être qu'une informe nébuleuse, ne serait pas encore au bout. Je n'ai pas vérifié l'exactitude de ces calculs, mais ils nous permettent de comprendre comment un œuf d'Insecte renfermant un aussi grand nombre de vacuolides élémentaires, à l'état embryonnaire, pourra se diviser un nombre immense de fois sans jamais cesser de posséder des échantillons variés de la faune cellulaire primitive. »

La théorie vacuolaire, que nous ne pouvons développer

ici comme il conviendrait pour en faire apprécier convenablement l'adaptation à la solution de tous les problèmes morphologiques, physiochimiques et physiologiques concernant la substance vivante, constitue un évident progrès sur toutes les autres théories granulaires, dans lesquelles on a trop souvent fait intervenir seulement des hypothèses gratuites où des données purement morphologiques.

On voit combien les théories des anciens auteurs différaient de ces idées, puisque Claude Bernard encore considérait l'eau comme un simple milieu intérieur où évoluaient les cellules.

C'est donc à notre maître le professeur Raphaël Dubois que revient l'honneur d'avoir démontré le vrai mécanisme de l'hydratation.

Sans doute, la force centrifuge ne saurait changer les propriétés de l'eau, mais elle intervient dans l'état d'équilibre intime du biogèle ou bioprotéon et aussi dans la partie libre de l'eau utilisée comme solvant ou comme véhicule des produits nutritifs ou excrétés. C'est de ce côté de la question que nous allons nous occuper d'abord.

On peut résumer ainsi les doctrines modernes sur les solutions. Ce sont des mélanges très homogènes d'un liquide (solvant) et de une ou plusieurs substances (corps dissous) préalablement gazeux, fluides ou solides.

Les solutions comprennent deux grands groupes : celles formées de principes cristallisables ou cristalloïdes ; celles constituées par des principes colloïdes.

Les solutions cristalloïdes se divisent à leur tour en conductrices et non conductrice de l'électricité. A cette dernière classe appartiennent le sucre, l'urée, etc., tandis que les acides, les bases, les sels sont de la première¹.

¹ Certains auteurs divisent ainsi les solutions :

1° Celles où les molécules dissoutes restent entières dans le liquide (sucre, urée, etc.);

2° Celles où les molécules se scindent en leurs éléments constitutifs, les ions (acides, bases, sels).

Au lieu de mesurer la conductibilité d'un liquide, on peut calculer sa résistivité, les deux propriétés étant toujours en raison inverse l'une de l'autre. Sous le nom de résistivité, on désigne la résistance opposée au passage d'un courant par un cube de 1 centimètre de côté; le courant entrant par une face et sortant par l'autre. Elle se mesure en ohms-centimètres. Nécessitant des précautions assez spéciales, nous n'étudierons pas les modifications susceptibles de lui être apportées par la force centrifuge. Nous ferons simplement de la cryoscopie. L'expérience a démontré en effet que les résultats ainsi obtenus sont absolument comparables à ceux fournis par l'étude de la résistivité.

Plus un liquide est hypertonique, plus sa résistivité est faible, plus sa conductibilité sera grande.

Les relations entre la résistivité et la cryoscopie s'expliquent puisque les résultats fournis dans les deux cas sont proportionnels à la pression osmotique des liquides et, par conséquent, au nombre de particules dissoutes.

Pour toutes les mesures de congélation, de densité, nous procédons comme suit :

Une fois la centrifugation terminée aussi rapidement que possible, nous saisissons un compte-gouttes dans chaque main.

Les caoutchoucs des deux pipettes sont déprimés de façon à ce que le liquide traversé pénètre difficilement à leur intérieur et de manière à n'aspirer, le moment venu, que les couches intéressantes.

Les deux instruments doivent être enfoncés ensemble et les poires d'aspiration décomprimées simultanément.

Mieux vaut encore introduire les deux compte-gouttes avant la centrifugation. Un simple couvercle de carton, perforé comme il faut, suffit à les maintenir dans les positions convenables à l'intérieur des tubes employés. Les poires sont, bien entendu, écrasées par une ligature facile à couper.

Nous avons enfin imaginé le petit dispositif que voici (fig. 1). Schématiquement, c'est un tube de verre (1) sectionné (A B).

Une bague de caoutchouc (C) relie ces deux parties. Un lien (f''), établi au préalable sur cette bague, permet, la rotation terminée, de séparer brusquement en deux tronçons la colonne liquide.

Une légère collerette maintient le système dans le vase à centrifuger (2); du coton (m) le cale en dessous pour éviter

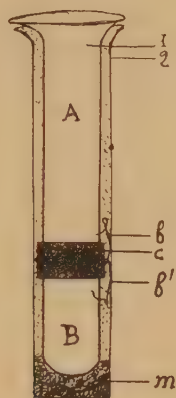


FIG. 1.

tout écrasement. Bien entendu, si l'on veut étudier la couche superficielle du liquide, il convient de placer la bague de caoutchouc au tiers supérieur environ du système, tandis que nous la mettrons au tiers inférieur pour un examen de culots. Cette précaution permet d'utiliser le maximum d'effets produits.

Toutes ces opérations, plus longues à décrire qu'à exécuter, doivent être faites très rapidement, vu la facilité des liquides à s'homogénéiser.

Rappelons en deux mots ce qu'est la cryoscopie, déjà bien oubliée.

Depuis longtemps on savait que l'eau de mer exige, pour se solidifier, plus de froid que l'eau douce, et que les sels dissous produisent ce phénomène, comme ils permettent aux plantes

de résister à des températures inférieures à zéro¹. Mais c'est Raoult² qui, le premier, eut l'idée d'analyser ce phénomène et de comparer l'abaissement des points de congélation suivant la solution examinée.

En 1875, Guthrie soutenait encore que la glace contenait une certaine partie de sels dissous. Pour lui, le corps formé était un « Cryohydrate ». Aujourd'hui, tout le monde admet que, dans un premier temps, le froid sépare le solvant du corps dissout, puis ensuite congèle le solvant.

Le grand mérite de Raoult et d'Arrhénius, fut de faire entrer dans les calculs, non seulement la notion poids du corps, mais aussi sa grandeur moléculaire.

Voici comment on écrit les formules cryoscopiques :

Soit un liquide se solidifiant à t , si on y dissout un corps, sa solidification est abaissée à t' .

On désigne par Δ l'abaissement de température observé, d'où

$$\Delta = t' - t.$$

Raoult fit encore observer que :

1° La température reste constante pendant toute la durée de solidification d'un liquide pur, tandis que, s'il est impur, elle baisse jusqu'à prise complète ;

2° Si on divise Δ par p (poids de la substance dissoute dans 100 grammes d'eau), on a $\frac{\Delta}{p}$, et si on multiplie le rapport par le poids moléculaire M du corps dissous, on obtient un nombre K constant pour chaque solvant $\frac{\Delta}{p} M = K$.

L'appareil classique est celui de Raoult et Ponsot, pour plus de commodité, nous avons construit un dispositif très voisin de celui de Chanoz ou de Bordier (fig. 2).

Le voici : essentiellement composé d'une caisse à deux

¹ Il serait intéressant de voir si les plantes les plus indifférentes au froid sont les plus riches en sels dissous dans la sève.

² *Comptes Rendus Académie des Sciences*, 22 juin 1885.

parois (C) intérieurement tapissée de zinc et remplie de liège entre ses doubles cloisons.

A l'intérieur du récipient, on dépose de la glace concassée avec du chlorure de sodium. Au milieu de ce mélange réfrigérant est fixé un tube de laiton (*l*), un thermomètre (*t*).

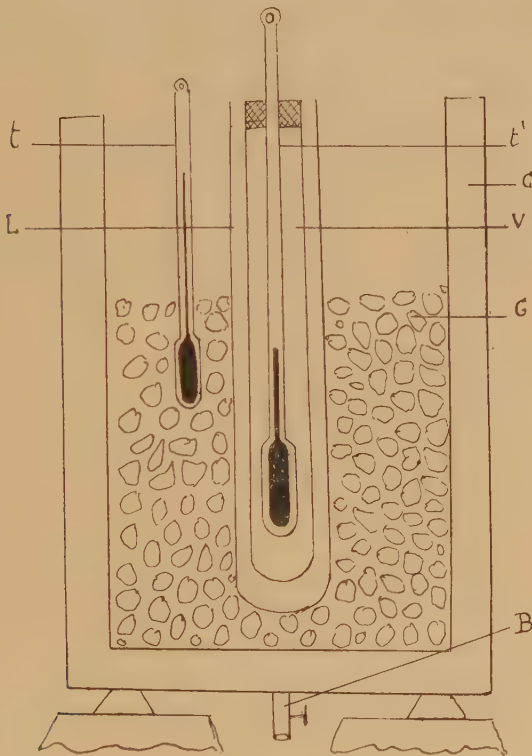


FIG. 2.

Dans le tube de laiton, nous plaçons enfin une éprouvette de verre (*v*) contenant la liqueur à cryoscooper où baigne un thermomètre divisé en cinquantièmes de degrés (*t'*).

Le mieux est de tenter un essai afin de savoir le point de congélation approximatif, puis de recommencer. Lorsque l'éprouvette est à un demi-degré plus bas que le point trouvé, on fait cesser la surfusion avec un cristal de glace. Le thermo-

mètre baisse encore, s'élève assez vite, puis lentement, et redescend.

Δ = le point le plus élevé qui fut atteint.

Les recherches que nous avons effectuées sur une solution de NaCl nous montrèrent :

Que cette eau salée congelant avant centrifugation à — 0,90 se solidifiait après une heure de centrifugation à 2.600 tours à — 1,20 dans la partie profonde de l'éprouvette et à — 0,20 dans sa partie superficielle.

Bien entendu, la recherche de K, signalée plus haut, ne présente pour nous aucun intérêt.

Avec une solution de sulfate de soude, congelée précédemment à — 0,50, nous avons eu, après centrifugation de la glace à — 0,15 dans le bout central¹ et à — 0,95 dans le bout périphérique des éprouvettes traitées.

L'action de la force centrifuge apparaît donc comme très manifeste dans ces diverses expériences. Voyons, par d'autres méthodes, ce qu'il advient des solutions au sortir d'une centrifugeuse.

Après avoir versé dans un verre à pied très rétréci du bas² une solution concentrée de sulfate magnésie, huit jours plus tard, nous avons procédé à deux prises simultanées de liquide (surface et fond), sans trouver la plus légère différence entre la densité des deux zones.

Ce résultat est constant, sauf pour les solutions hyper-saturées.

Bien plus, ayant eu la bonne fortune de trouver un flacon de sirop simple, non remué depuis dix ans au moins, il nous fut loisible de constater l'homogénéité parfaite du produit.

Mais, après centrifugation de une heure à 2.600 tours environ, dans un petit flacon à densité³ de 2 cm³,5, le culot de la

¹ Pour nous le côté central est le plus près de l'axe, le périphérique le plus éloigné.

² Plus le cône est effilé, plus il est facile d'aspirer les parties les plus profondes.

³ Signalons le nouveau flacon à densité (fig. 3), construit par Guillemand, rue Sainte-Hélène, Lyon. L'examen du schéma suffit à en expliquer le principe.

solution de sulfate magnésien essayée pesait 0 g. 008 de plus que les couches supérieures.

L'opération répétée avec le vieux sirop simple déjà utilisé, donnait une différence de 0 g. 015 entre les deux zones.

On peut donc affirmer que la force centrifuge rompt l'homogénéité d'un liquide incapable d'être modifiée spontanément,

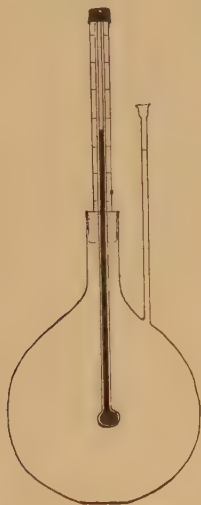


FIG. 3.

même après des années. Cette constatation, nous le verrons plus tard, peut être grosse de conséquences pour la cellule.

Vant' Hoff, après les travaux du célèbre botaniste Pfeffer fit, en effet, remarquer que dans une solution, la matière dissoute se comporte comme un gaz. L'analogie entre les substances dissoutes et les gaz est complète ; les molécules des corps dissous sont mobiles les unes par rapport aux autres, comme les molécules des gaz.

Les molécules dissoutes exercent une « pression dite osmotique », parfois considérable sur les limites des espaces qui les renferment. Les limites du solvant tiennent ici le rôle des parois d'un récipient. Si l'on songe que les forces agissantes

atteignent plus de 22 atmosphères dans certaines solutions¹, on peut aisément juger du travail mécanique effectué contre l'enceinte. Travail si intense qu'il détruirait tout sans l'intervention du frottement qui, lui aussi, est considérable dans les liquides. Cette puissance neutralisante agit d'autant mieux que le contact est plus intime entre les surfaces et que les surfaces sont plus grandes. Or, la surface augmente considérablement par la division des substances, et les substances dissoutes, divisées en molécules très petites, ont avec le solvant une surface de frottement énorme.

Toute modification dans le jeu de ces forces peut être considérée comme redoutable dans ses conséquences. Plus encore dans les solutions conductrices d'électricité, où les ions neutres, les cations et les anions, sont en état d'équilibre instable, toujours prêts à se déplacer sous les causes les plus diverses².

Ces changements de densité nous amènent à dire un mot de la tension superficielle et des phénomènes connexes. Pour expliquer la tension superficielle, nous pouvons supposer la surface libre d'un liquide S, deux molécules (*a-b*) l'une (*a*) située à une distance de la surface libre du liquide plus petite que le rayon d'activité moléculaire, l'autre (*b*) à une distance plus grande de cette surface libre. Il y aura donc dissymétrie d'action autour de la première tandis que tout sera symétrique autour de la seconde.

La dissymétrie atteint son maximum pour les molécules situées dans le plan horizontal formant la surface du liquide.

Tant qu'on n'est pas à une distance de la surface, supérieure

¹ Ces 22 atmosphères sont obtenues dans des solutions sucrées à 342 grammes pour 1000.

² Lewis Yones a donné une image très amusante d'une solution électrolytique. Il compare cette solution à une salle de bal où des couples représentent les ions neutres; des dames et des cavaliers isolés, des ions dissociés. Si à une extrémité des salons se trouvent de superbes miroirs, à l'autre des liqueurs et des cigares, à un moment donné les femmes iront vers les glaces, les hommes au buffet, tandis que les couples eux-mêmes s'arracheront à l'étreinte pour suivre le mouvement.

au rayon d'activité moléculaire il y a des forces tangentes ou parallèles à la surface libre, provenant de la dissymétrie signalée¹.

Cette force à laquelle est soumise chaque molécule de la couche superficielle est la tension du liquide qui entre en conflit avec la cohésion puissance attractive de chaque molécule.

Pour calculer cette propriété d'un liquide, la méthode la plus simple semble celle utilisant le compte-gouttes.

En effet, quand une goutte se forme à l'extrémité d'un de ces appareils, le liquide, à la condition de mouiller le verre adhère à la paroi externe du tube effilé. La force en action est la tension superficielle.

A mesure que la goutte grossit, elle se pédiculise formant un rétrécissement nommé gorge, jusqu'à production au niveau de cette gorge d'une rupture.

Soit f la tension superficielle spécifique et p le poids de la goutte :

Soit r' le rayon du cercle de gorge du compte-goutte on a :

$$2 \pi r' \times f = p.$$

Mais le rayon r' est proportionnel au rayon externe de de l'orifice r , $r' = Kr$, en sorte que l'on a :

$$2 \pi Kr \times f = p.$$

Si l'on fait écouler par le compte-gouttes un volume V du liquide on obtient un nombre N de gouttes dont le poids est Np .

Si d est la densité du liquide, le volume V pèse Vd , d'où

$$Np = Vd = 2 \pi Kr f,$$

et l'on tire

$$f = \frac{Vd}{N \times 2 \pi Kr}.$$

¹ Cf. *Physique de Bordier*, et autres ouvrages du même auteur (collection Testut).

Avec un autre liquide de tension superficielle f' et de densité d' le même volume V donnera un nombre différent N' de gouttes, et l'on aura de même :

$$f' = \frac{V d'}{N' \times 2 \pi K r}$$

En divisant f/f' , on obtient facilement :

$$\frac{f}{f'} = \frac{V d}{V d'} \times \frac{N' 2 \pi K r}{N 2 \pi K r} = \frac{N' d'}{N d}$$

Si l'on prend un volume à égal à 5 cent. cubes et un orifice de 3 mm. de diamètre extérieur, l'eau qui a une tension superficielle f' égale à 7,5 mmg et une densité $d' = 1$, donne 100 gouttes. La formule devient donc :

$$f = 7,5 \times \frac{100 d}{N}$$

Ceci posé, pour connaître la tension superficielle, il suffit de prendre la densité du liquide à essayer en divisant son poids par celui de l'eau mise à sa place dans le flacon, de compter les gouttes, puis d'utiliser la formule précédente¹.

Après centrifugation de une heure à 2.600 tours environ, nous avons prélevé du liquide profond et du liquide superficiel d'une solution de sulfate magnésien.

La partie superficielle donnait

$$d = 1,4,$$

nombre de gouttes en 5 cm³ = 104,

$$\begin{aligned} \text{d'où } f &= 7,5 \times \frac{100 \times 1,40}{104} = \frac{750 \times 1,40}{104} = \frac{817,5}{104}, \\ f &= 7,8. \end{aligned}$$

¹ Si les gouttes étaient supérieures à 140, il faudrait en retrancher le nombre n' donné par la formule :

$$N' = 0,002 (N - 100) + 0,00036 (N - 100)^2$$

$$\text{la tension } f = \text{alors } 7,5 \times \frac{100 d}{N - N'}$$

La partie profonde, au contraire, d'une densité = à 1,9
laisse tomber 120 gouttes,

$$\begin{aligned} \text{d'où} \quad f &= 7,5 \times \frac{100 \times 1,9}{120} = \frac{1.425}{120}, \\ f &= 11. \end{aligned}$$

Comme les précédents, ces résultats démontrent combien
les solutions *aquo-minérales* sont influencées par la force cen-
trifuge.

*
**

Si l'on verse un acide dans une dissolution concentrée de
silicate de sodium, on obtient un précipité gélatineux qui,
lavé et desséché, a une composition variable en eau. Ces com-
posés ne sont pas hydratés mais sont constitués par une pâte
formée de silice anhydre dans un état de division extrême.
(M. Le Chatelier).

C'est à ces composés que l'on peut obtenir également avec
l'alumine, le peroxyde de fer, et d'autres produits minéraux,
que Graham avait donné le nom d'hydrogels pour les distin-
guer des alcoogèles, des éthérogels dans lesquels l'alcool ou
l'éther peuvent remplacer l'eau sans que l'état de gel soit
détruit. Inversement, par une action de masse, l'eau peut
remplacer l'alcool et l'éther fixés dans un alcoogèle et un
éthérogèle. Soit dit en passant, c'est en s'appuyant sur cette
propriété des colloïdes que Raphaël Dubois a pu donner
l'explication du mode d'action intime des alcools, de l'éther
et de tous les anesthésiques généraux, et du réveil qui survient
quand l'élimination du toxique se faisant peu à peu par la
respiration, la masse aqueuse des humeurs, c'est-à-dire de
de l'eau reconquiert la place perdue.

Il n'est par inutile de rappeler pour la compréhension de ce
qui suivra que R. Dubois a été le premier à insister sur l'im-
portance qu'il y a de diviser les principes immédiats de la

matière vivante ou bioprotéon en cristalloïdes, pseudo-cristalloïdes et colloïdes, dans ses magistrales *Leçons de Physiologie générale et comparée*¹.

Il enseignait depuis de longues années qu'il y avait lieu de distinguer des autres, *les colloïdes actifs*, capables de provoquer des réactions chimiques, des dissociations moléculaires, etc., et que les propriétés générales des colloïdes zymasiques étaient comparables à celles du bioprotéon lui-même ce qui permettait de les considérer comme quelque chose d'encore vivant ou de déjà vivant. Il s'était appliqué à montrer que la substance minérale cristalloïde, grâce à l'action combinée du bioprotéon ancestral, du germe et des radiations solaires, s'élève à l'état de colloïde organique, puis de *biogel* pour retourner après la mort à l'état cristalloïde; en passant ou non du végétal dans l'herbivore et de celui-ci dans le carnivore, de sorte qu'en réalité, le cycle de la vie et de la mort ne serait autre que celui du cristalloïde passant à l'état de colloïde biogel pour retourner à l'état cristalloïdal sous l'action combinée du bioprotéon ancestral et des agents cosmiques extérieurs, autrement dit de l'énergie ancestrale et de l'énergie empruntée au monde extérieur pour nous servir du langage dualiste².

Expérimenter sur les hydrogels semblait une transition naturelle entre les solutions cristallines et les sols.

Même avec les plus grandes vitesses à notre disposition, les essais ne produisirent aucun changement quel que fussent les proportions de silice et d'eau.

¹ Chez Masson, éditeur, Paris, 1898.

² Rappelons que les mots de : force, énergie, matière, n'ont plus de sens aujourd'hui. Le professeur R. Dubois a montré, en effet, depuis un quart de siècle, que ce ne sont que des aspects différents d'un seul et même principe unique, le protéon qui, par ses incessantes et innombrables métamorphoses, constitue en définitive la *Nature*, où rien ne se perd, rien ne se crée, mais où tout évolue d'une manière incessante. La théorie uniciste de R. Dubois a été pleinement confirmée par la découverte récente des propriétés du radium, qui nous ont conduit à l'idée de *Dématérialisation de la matière* qui n'est, en définitive, que l'expression nouvelle de l'ancienne théorie uniciste protéonique de R. Dubois.

Voyons maintenant ce qu'il advient des colloïdes semblablement traités.

On a coutume de définir les colloïdes par des propriétés négatives opposées aux propriétés des substances cristallines. C'est ainsi que les ouvrages les représentent comme n'ayant pas de pression osmotique.

Certains ont récemment contesté cette façon de voir et leur attribuent des puissances d'osmose très faibles.

En science, très souvent, les nombres décimaux ont autant d'importance que les nombres entiers.

Ne sont-ce pas, par exemple, des pressions du millième du millimètre qui permettent d'obtenir les rayons de Roentgen?

Depuis bien des années déjà les savants considèrent qu'en matière colloïdale il n'y a pas de solutions mais des émulsions¹.

Nous avons précédemment relaté les changements de densité obtenue par centrifugation, dans les diverses couches d'une solution saline² ou sucrée, puis son retour rapide à l'homogénéité par simple repos. Ces expériences, à notre avis, tendent à prouver que sols et solutions sont une même chose. Seule la taille des particules constituerait, donnant ainsi deux aspects distincts. Tout porte à croire qu'avec des procédés d'investigation plus perfectionnés, on découvrira les grains des solutions, qui sont sans doute les molécules, et dans les cas de solutions très étendues les ions.

Quoiqu'il en soit, tenons-nous en à la définition commune, faisant des colloïdes : des corps ne cristallisant pas, toujours amorphes, ou formant de pseudo-cristaux, enfermant leur solvant dans leur masse. Cette dernière propriété, leur

¹ Les physiiciens séparent l'état colloïdal de l'état d'émulsion uniquement par les différences de taille des granules en suspension.

² Au moment de mettre sous presse, nous avons appris que pour ce qui est des solutions salines, le Bry de Bruin, puis Jacques Duclaux, sont arrivés aux mêmes conclusions que nous.

permet de se prendre sous une forme voisine de celles qu'ils ont à l'état liquide.

Certains se coagulent par la chaleur (albumine), d'autres par le froid (gélatine), ceux-ci par l'adjonction d'une substance (caséine), ceux-là grâce à des principes joints à eux (fibrine du sang).

Tous se présentent avec la consistance des gelées (gels) ou des pseudo-solutions (sols) plus ou moins visqueuses, opalescentes.

Dans tous les colloïdes vivants ou non, l'ultra-microscope, montre des corpuscules d'autant plus nombreux ou volumineux qu'ils sont plus consistants.

La notion de « pseudo-solution » permet de comprendre pourquoi les milieux colloïdaux sont soumis à des phénomènes intenses d'adsorption et d'absorption précédemment signalés. Les granulations en suspension doivent, en effet, donner au contact du liquide ambiant les mêmes réactions que celles fournies par des molécules liquides, frôlant des surfaces solides.

Ces quelques points rappelés, examinons ce que peuvent devenir les colloïdes sous l'influence de la force centrifuge :

Le seul procédé pour saisir les changements intimes est l'ultra microscope.

L'instrument est trop connu pour être décrit et chacun sait que son principe consiste à éclairer fortement et par réfraction les corps à étudier. Ils apparaissent alors comme les grains de poussière dans une chambre obscure, traversée par un rayon de soleil.

Le modèle¹ que nous avons utilisé est celui de Leitz. Il se substitue au condensateur de Abbé. L'éclairage provenait soit d'une lampe Nernst (très agréable par sa blancheur), soit d'une lampe spéciale à charbons, munie de la lentille fixée au foyer

¹ Le véritable ultra-microscope est constitué par le dispositif de Zsigmondy et Siedentopf.

voulu, et très commode ainsi pour diriger convenablement un faisceau lumineux.

Nos expériences portèrent sur des sols d'argent, de mercure et d'urane colloïdaux.

Chacun, après un brassage énergique, fut divisé en deux lots L'un destiné à servir de témoin, l'autre à être centrifugé une heure à 2.600 tours, puis dix minutes à 3.900.

Malgré un ébranlement aussi considérable, toutes les fois que nos sols n'étaient pas sursaturés, qu'aucun précipité ne se formait de lui-même, les granulations restèrent aussi abondantes, aussi mobiles dans les parties superficielles que dans les couches profondes du liquide.

Il est probable qu'aux diverses forces ¹ précédemment étudiées à propos des solutions, viennent s'adjoindre ici des phénomènes électriques, susceptibles de donner aux granules des sols une action réciproque, les empêchant de se disjoindre.

Si l'on ne partageait pas cette façon de voir, il faudrait admettre que les pseudo-solutions peuvent s'homogénéiser à l'instant même où cesse la centrifugation.

Les travaux récents de Perrin entre autres tendent à faire accepter la première hypothèse.

Pour être complet, disons que, dans le cas de l'argyrol, nous avons rencontré au sein des culots quelques rares amas granuleux. Cinq ou six grains apparaissaient comme intimement serrés les uns contre les autres. L'ensemble, d'aspect sphérique, simulait une minuscule morula.

Jamais les mêmes phénomènes ne se présentèrent dans les couches superficielles des liquides centrifugés, ni dans les échantillons témoins.

La forme de la figure laisserait supposer le rôle attractif joué par certains granules plus gros, pour d'autres plus petits.

¹ L'adsorption surtout d'une puissance considérable, puisqu'il faut, d'après Bunsen, plus de 500 degrés pour faire disparaître d'une plaque de verre mouillé l'eau adsorbée par la surface.

Mais s'agissait-il d'argent colloïdal ou d'impuretés ? Rien ne permet de faire ce diagnostic.

La résistance extraordinaire des métaux colloïdaux à la force centrifuge, se trouve confirmée par la recherche de leur densité avant et après rotation.

Une pseudo-solution de collargol soigneusement préparée plusieurs jours d'avance, bien filtrée, puis mise au repos quarante-huit heures pour permettre le dépôt du plus léger précipité susceptible de se former encore, est décantée au moment de l'expérience. On la secoue pour l'homogénéiser. On prend la densité au flacon, puis par les moyens précédemment expliqués, après trente minutes de rotation à 2.600 tours, nous prélevons le culot des tubes. La densité de ces derniers concorde absolument avec celle du sol témoin, même résultat pour les couches superficielles.

Voyons maintenant ce que deviennent les gels sous l'action de la force centrifuge. Les essais portèrent sur la gélatine plus ou moins hydratée.

La première précaution à prendre est de ne centrifuger que des tubes bien bouchés, pour éviter l'essorage et une concentration de plus en plus grande.

Des recherches faites il résulte qu'une gélatine concentrée n'est aucunement modifiée par la centrifugation, tandis que avec un pourcentage d'eau très élevé¹, une partie de cette eau s'échappe du gel sous certaines conditions. Il faut opérer au début de la « prise » et utiliser de grandes vitesses.

Peut-être serait-il possible d'obtenir davantage avec les centrifugeuses à vide tournant à 13.000 tours par minute. Mais, avec nos appareils donnant 3.900 tours, nous avons tout juste pu voir sourdre quelques gouttes de liquide, expulsées comme un « sérum » de la masse gélatineuse.

Nous signalions tout à l'heure la division des colloïdes en :

¹ Choisir la plus faible quantité de gélatine permise par la température ambiante pour l'obtention du gel.

corps passifs, précédemment étudiés, et en corps actifs, que nous allons examiner.

En 1826, Mitscherlich découvre que le liquide de macération de la levure de bière agit comme cette dernière dans l'inversion du sucre de canne. Quelques années plus tard, en 1832, Payen extrait de la levure une substance jouissant de ses propriétés et la désigne sous le nom de diastase.

Successivement d'autres corps sont préparés sous le nom de zymases ou ferments solubles. Ce dernier terme est d'ailleurs mauvais, ne répondant pas à la réalité.

On reconnaît à ces corps un rôle hydratant, oxydant ou coagulant, etc., mais toutes les explications physico-chimiques ou physico-mécaniques expliquent bien imparfaitement les propriétés reconnues.

Aussi R. Dubois émet-il l'opinion que ces colloïdes actifs sont constitués par des particules infiniment petites, animées de mouvements en rapport avec ceux du bioprotéon dont ils dérivent¹, mouvements dont les modalités doivent varier avec les effets produits.

En 1887, R. Dubois assimile ces granulations des colloïdes actifs aux vacuolides qu'il venait de découvrir comme nous l'avons indiqué déjà². Pour lui, ce sont des granulations utriculaires plus ou moins volumineuses, susceptibles de croître ou de décroître suivant l'intensité de l'osmose à travers leurs parois.

Laissons d'ailleurs à ce propos la parole à l'auteur³ :

« Les vacuolides, sous l'influence de l'hydratation, peuvent prendre des dimensions relativement considérables, et montrer une membrane d'enveloppe assez nette pour que je n'aie pas hésité à en faire dériver les leucites...

¹ Pour détails, cf. Russo, thèse de sciences, 1912, Lyon.

² Cf. *Société Biologie*, mémoire IX, s. 8, IV, 1887; *Société Biologie*, LX, p. 526, 1906, etc., etc.

³ Article HYDRATATION, in *Dictionnaire de Richet*. — Les vacuolides de la purpurase et la théorie vacuolaire. R. Dubois, in *Comptes Rendus Académie des Sciences*, t. CLIII, p. 1507. — *Leçons de Physiologie générale et comparée*, par R. Dubois, p. 70-78, chez Masson, Paris.

« ... Comme les leucites, les vacuolides sont des laboratoires où s'opèrent toutes les réactions intimes bioprotéoniques. On peut se les figurer comme d'infiniment petits dialyseurs dans lesquels ou autour desquels, grâce à l'eau, toutes les forces de tension, d'adsorption, sans compter celles de dissociation dues à l'eau, s'exercent avec une prodigieuse activité. C'est ce phénomène qui nous apparaît dans son ensemble lorsque la graine va germer et revenir à la vie active après avoir bu un peu d'eau. »

Dans un prochain chapitre sur la cellule nous reviendrons d'ailleurs sur les vacuolides¹.

Ces colloïdes actifs dont l'importance apparaîtra de jour en jour plus grande, se divisent d'après R. Dubois en macro- et microzymases.

R. Dubois a signalé², en effet, dans la purpurase³ du *Murex brandaris*, des corpuscules vacuolidaires présentant l'aspect réniforme, dont le centre et la périphérie n'offrent pas la même réfringence. Pour les voir il faut délayer dans un peu d'eau des traces de purpurase. Un objectif 7 et un oculaire 2 suffisent⁴ (fig. 4) à l'examen.

Voici les constatations qu'il nous a été donné de faire après centrifugation de cette macrozymase.

Une quantité x de purpurase fut laissée vingt-quatre heures dans 5 centimètres cubes d'eau distillée. Du mélange agité

¹ R. Dubois, *la Vie et la Lumière*, Alcan, 1914. Où l'auteur revendique hautement la découverte des mitochondries : « Ces mitochondries, mises récemment à la mode par Benda, ne sont bien évidemment pas autre chose que mes anciennes vacuolides, car deux quantités égales à une troisième sont égales entre elles. » (P. 7.)

² R. Dubois, les Vacuolides de la purpurase et la théorie vacuolaire (*Comptes Rendus Académie des Sciences*, t. CLIII, p. 1507).

³ Pour préparer cette diastase, il suffit de découper les glandes à pourpre de *Murex* bien vivants, de les broyer rapidement dans du sable et de l'alcool à 95 degrés. Le liquide est jeté sur un filtre. Ce qui passe est la purpurine. Quant à la purpurase, on l'extrait en lavant le magma à l'eau chloroformée que l'on fait tomber ensuite dans de l'alcool fort. Un précipité zymasique naît immédiatement sous forme de flocons blanchâtres. Une fois secs, ces flocons présentent l'aspect vernissé caractéristique des diastases.

⁴ Le grand axe des grains varie entre 9 μ et 5 μ et le petit entre 5 et 2 μ et demi.

fréquemment, aussi homogène que possible, nous avons pris deux parts :

L'une conservée comme témoin.

L'autre centrifugée à 3.400 tours pendant une heure. Cette opération terminée, nous plaçons dans trois verres de montre A, B, C, un demi-centimètre cube de purpurine.



FIG. 4.

En A, nous ajoutons un demi-centimètre cube de purpurase témoin ;

En B, un demi-centimètre cube de purpurase centrifugée prise au fond du tube ;

En C, un demi-centimètre cube de purpurase également centrifugée, mais prélevée à la surface du liquide.

Dans chacun de ces mélanges nous trempions un morceau de papier filtre qui, exposé à la lumière, se colore de trois façons différentes :

La purpurase témoin (A) rougit la première, mais s'arrête bientôt ;

Celle du fond du tube (B) se colore très fortement ;

Celle de la partie supérieure (C) ne se teinte presque pas.

Recommencées plusieurs fois, ces expériences furent concordantes.

Au microscope, on rencontre des grains réniformes bien plus nombreux dans le culot du tube centrifugé que dans ses couches superficielles et que même dans le sol témoin.

Nous avons eu à notre disposition certaines purpuras ne présentant pas de corps réniformes, mais de simples grains réfringents, irréguliers, petits.

Or, chose curieuse, ces diastases donnent un rouge moins

violacé que les premières et sans passer par la teinte verte décrite par R. Dubois¹.

La préparation de la luciférase² est analogue à celle de la purpurase. Mais au lieu de gros corpuscules réniformes, il existe simplement des petits corpuscules arrondis de même aspect (fig. 5).

Comme pour la diastase de la pourpre, nous avons comparé les phénomènes donnés avant et après centrifugation.



FIG. 5.

Une heure de traitement à 3.400 tours fait apparaître dans le culot un nombre de granulations bien supérieur à la normale.

Si nous prenons deux tubes et que dans chacun nous mettions 5 centimètres cubes d'un sol de luciférine très homogène, plus dans l'un 5 centimètres cubes d'eau et de diastase centrifugée, et dans l'autre 5 centimètres cubes d'eau et de diastase normale, nous constatons, après un brassage énergique, non pas une lumière plus vive dans le tube renfermant la diastase centrifugée, mais plus persistante. Le tube témoin est éteint depuis quelques minutes déjà que l'autre brille encore.

Une centrifugation très violente³ d'eau lumineuse obtenue par macération d'un siphon de pholade dactyle n'offre, elle non plus, aucune intensification dans la luminescence produite.

Nous avons tenu à expérimenter d'abord sur la purpurase et la luciférase parce que la couleur, la lumière, sont des propriétés

¹ Cf. Recherches sur la pourpre et quelques autres pigments animaux (*Arch. de Zool. expér. et génér.*, 5^e série, II, 1909; *Comptes Rendus Biologie*, LIV, p. 82, 1902; *Comptes Rendus Académie des Sciences*, CXXXIV, p. 245, 1902).

² Les vacuolides (*Biologie*, 1887, et t. LX, 1906); Sur le mécanisme de la biophotogénèse (*Biologie*, LII, p. 569, 1893); *la Lumière et la Vie*, chez Alcan, 1914.

³ L'opération a duré une heure et quart à plus de 3.900 tours, avec arrêt toutes les cinq minutes pour examiner les résultats.

très faciles à comparer avec d'autres de même ordre lorsqu'on peut les examiner simultanément.

Voyons maintenant ce que deviennent les microzymases après centrifugation. La technique reste identique à celle employée pour les macrozymases.

Nos premières expériences portèrent sur la « dyspepsine Hep », mais vu la difficulté d'obtenir des digestions rapides avec ce produit, nous avons employé la « Pepsencia », puis de la pepsine de Park et Dawis qui, à 50 degrés, attaque 3.000 fois son poids de blanc d'œuf.

D'une série d'essais il résultait que, toutes les précautions précédemment signalées¹ étant prises, la partie superficielle des tubes centrifugés apparaissait comme plus active que les culots.

Même constatation avec la ptyaline, la pancréatine et le suc gastrique de chien.

Le résultat semblait curieux et contradictoire avec ceux obtenus sur les solutions salines, les macrozymases d'une part, et sur l'argyrol de l'autre.

Il fallait admettre que, ou bien les petits grains diastasiques renfermaient du liquide à leur intérieur et se trouvaient pour ainsi dire exprimés sous l'influence de la centrifugation, ou bien que, plus légers, ils surnageaient.

En réalité, des essais nouveaux pratiqués avec de la maltine², et surtout avec de l'amygdaline et de l'émulsine, nous montrèrent que seule la viscosité³ des sols produit les phénomènes en question.

Une solution très étendue, très fluide, d'émulsine réagit aussi

¹ Cf. plus haut, p. 32 et suivantes.

² Pour obtenir de la maltine pure, introuvable dans le commerce, mettre à germer des grains d'orge, les jeter dans l'alcool, les broyer avec de l'eau distillée, décanner soigneusement et faire naître avec de la chaux ou de la baryte en présence de l'acide phosphorique un précipité de phosphate de calcium ou de baryum qui entraîne la diastase.

³ L'auteur a construit deux modèles de viscosimètres.

L'un, excessivement simple, peut s'établir au besoin avec des matériaux de fortune.

bien dans ses parties profondes que dans ses couches superficielles sur l'amygdaline.

La méthode Buignet, déjà ancienne¹ et bien oubliée, est



FIG. 6.

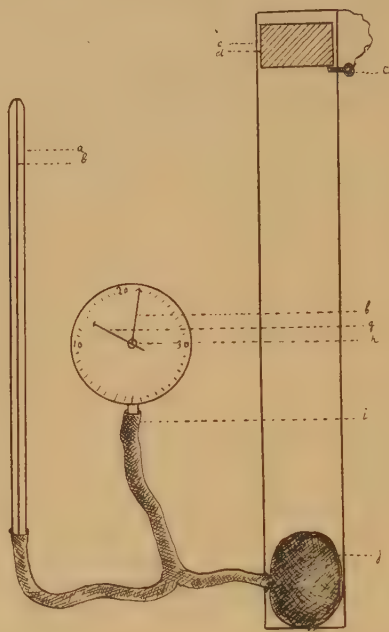


FIG. 7.

Il suffit d'un morceau de tube capillaire de 15 centimètres de long, d'un petit entonnoir de verre et d'une bague caoutchoutée pour les adapter l'un à l'autre.

Une feuille de papier régulièrement divisée en + et —, susceptible de glisser sur le tube servira de graduation (fig. 6).

On verse un peu d'eau distillée dans l'entonnoir et l'on attend l'arrêt du liquide. Ce point sera le zéro du système. Il ne reste plus qu'à remplacer l'eau par les diverses solutions analysées et à faire la lecture. Sur la figure 6 tube et entonnoir sont solidaires.

La figure 7 représente un second modèle d'appareil.

Il se compose essentiellement d'un manomètre métallique à maxima (h), d'une soufflerie (j) reliée d'une part au tube capillaire (b), de l'autre au manomètre.

Pour expérimenter, il suffit d'aspirer le liquide jusqu'au trait (marqué), puis de laisser tomber sur la soufflerie le poids (d), ce dernier descend d'une hauteur constante. L'index (b) entraîné par l'aiguille (g) donnera un degré viscosimétrique d'autant plus fort que la pression nécessaire pour chasser le liquide aura été plus grande (Cf. *Ann. Société Linnéenne*, Lyon, t. LXII, 1915).

¹ Buignet, *Journal de Pharmacie*, t. XXXV, p. 168.

excessivement commode pour doser l'acide cyanhydrique dégagé.

Basée sur le fait qu'une solution de SO^4Cu , donne avec du cyanure de potassium un précipité jaune vert. Il suffit pour l'appliquer de prendre un ballon à fond plat, posé sur du papier blanc, de verser dans le ballon 100 centimètres cubes de liquide à essayer, additionné d'un fort excès d'ammoniaque.

On remplit une burette graduée avec une solution de SO^4Cu à 23,09 par litre, qu'on laisse tomber goutte à goutte dans la liqueur examinée, jusqu'à ce que le bleu céleste ne disparaisse plus.

Chaque division de la burette, c'est-à-dire chaque dixième de centimètre cube utilisé, représente un millimètre cube d'acide cyanhydrique.

Bien entendu, il importe de comparer toujours des liquides aussi semblables que possible, ainsi appelons *a*, *b*, *c*, *d*, *e*, *f*, *g*, nos liquides superficiels; 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, nos liquides profonds.

Nous doserons non pas chacune des deux catégories successivement, mais

a puis 1

b puis 2,

Pour approcher autant que possible de l'identité, nous prendrons ensuite :

3 puis *c*

4 puis *d*

e puis 5

f puis 6

7 puis *g*, etc.

Par ces alternances répétées, un groupe étant examiné tantôt le premier, tantôt le deuxième, nous serons certains d'être dans d'excellentes conditions de comparaison.

Les effets obtenus montrèrent une similitude entre les diverses couches de microzymases.

Cela corrobore d'ailleurs les résultats relatés plus haut, à propos des sols métalliques.

Quant aux macrozymases, elles ont un culot plus actif, parce que leurs granulations constitutantes, excessivement grosses, peu nombreuses, sont entraînées par la centrifugation.

Connaissant les modifications subies par les solutions et les sols, voyons ce que deviennent ces derniers centrifugés dans des membranes.

*
* *

Un des rôles primordiaux des membranes chez les êtres vivants est, sans doute aucun, celui de régulariser les échanges liquides ou gazeux.

De ce rôle découle toute une série de phénomènes catalogués sous le nom d'osmose.

Les derniers progrès de la biogénèse ont même mis en évidence que de simples gouttes placées les unes près des autres tendent immédiatement à s'organiser, à se densifier dans la zone périphérique en vue de produire une membrane plus ou moins complexe.

En 1748, un Français, l'abbé Nollet, démontra le premier qu'une vessie de porc remplie d'alcool, puis plongée dans l'eau, se gonfle progressivement, c'est-à-dire laisse pénétrer dans son intérieur le liquide ambiant, tout en perdant une faible portion de son contenu.

Ces données, reprises par Dutrochet soixante ans plus tard, devinrent petit à petit excessivement fécondes en résultats. Aujourd'hui, on peut considérer l'osmose comme la base de tout phénomène vital¹.

¹ « La pression osmotique, dit Vant'Hoff, est un facteur fondamental dans les diverses fonctions vitales des animaux et des végétaux ». D'après de Vries, c'est elle

Dans certains cas sa production expérimentale jointe à la diffusion suffit à donner des formes très curieuses d'Animaux ou de Végétaux.

Utilisant la belle découverte de Moritz Traube, si hautement perfectionnée par Leduc, nous avons tenté de produire des membranes chimiques aptes à l'osmose, puis de les soumettre à l'action de la force centrifuge.

Deux formules sont particulièrement commodes, vu la constance des résultats obtenus¹.

L'une exige simplement une masse bien homogène de sucre et de sels cupriques divisée en petites pilules. Chaque granule déposé dans une solution de gélatine au ferrocyanure donne plus ou moins vite des formes végétales très élancées.

L'autre consiste à mettre un cristal de calcium en contact avec divers sels mélangés à du silicate de potasse.

La première réaction exige une température d'environ 28 degrés. Cela contribue à rendre très fragile la pilule sucrée. Aussi, même avec des vitesses de 100 tours à la minute, tout est démoli, le fonds du tube offre uniquement un culot de précipité.

A 60 tours, la destruction n'est pas complète et, tandis que

qui règle la croissance des plantes; selon Massart, elle gouverne la vie des germes pathogènes.

« On a pu dire que le phénomène élémentaire de la vie, est le contact entre deux solutions différentes. C'est le phénomène physique initial dont découlent souvent les lois de la physique et de la chimie, toute la série des phénomènes qui constituent la vie. L'étude des solutions et des phénomènes qui se passent lors de leur contact immédiat, ou lorsqu'ils sont séparés par des membranes osmotiques, est donc la préface, la base même des études biologiques ». (Leduc, *Théorie physico-chimique de la vie*).

¹ Pilules avec sucre, une partie; sulfate de cuivre, deux parties. Mélange avec :

Gélatine à 10 pour 100	10 à 20 parties
Ferrocyanure à saturation	5 à 10 —
Chlorure de sodium à saturation	5 à 10 —

Mélange avec :

Silicate de potasse à 33 degrés	60 grammes
Solution saturée de carbonate de soude	60 —
Solution saturée de phosphate bibasique de soude	30 —
Eau Q. S. pour 1.000 (Leduc).	

nos éprouvettes témoins donnèrent des formes très caractéristiques (fig. 8), les vases centrifugés présentèrent une ébauche de croissance : des petits clochetons de 7 à 8 millimètres d'élévation (fig. 9).

La seconde formule produit généralement des types assez solides. Pour être plus certain encore de cette résistance, nous substituâmes au chlorure de calcium, du chlorure de baryum, bien moins déliquescent ; au silicate de potasse, du silicate de soude, moins friable.



FIG. 8.

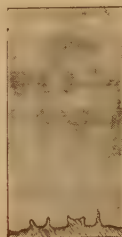


FIG. 9.

Les tubes témoins se peuplèrent après vingt-quatre heures de longs filaments plus ou moins denses, plus ou moins droits ou brisés, appliqués pour une bonne part contre les parois (fig. 10).

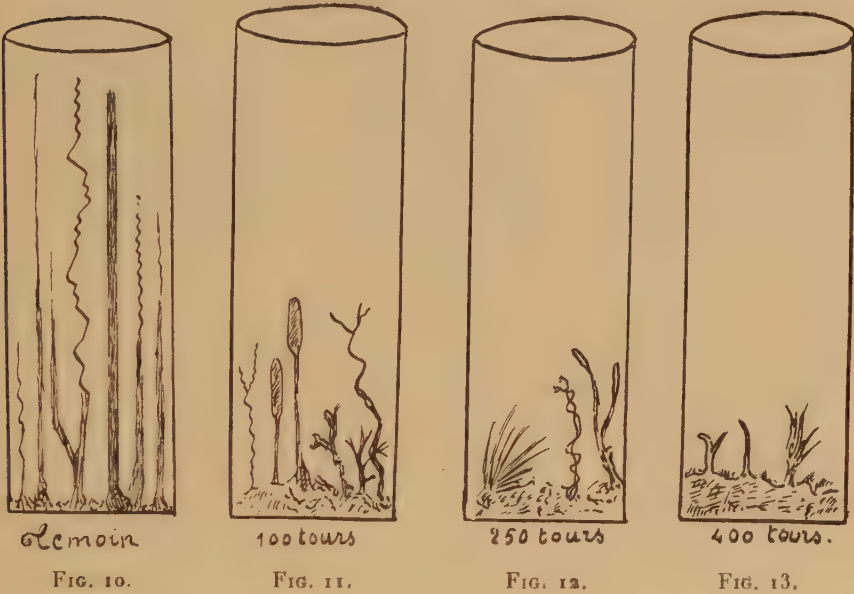
Ceux centrifugés à 100 tours offraient un aspect bien différent. Les formations beaucoup plus courtes n'utilisèrent pas les surfaces de verre pour s'accroître. On peut les ramener à deux types : l'un rappelant les tiges de *Carex* surmontées de leurs épis, l'autre les Polypiers (fig. 11).

Après vingt-quatre heures aussi de rotation à 250 tours, ces types *Carex* et polypiers se retrouvent, mais moins élevés encore (fig. 12).

Quant au mélange soumis à une vitesse de 400 tours environ, il présente uniquement des formes « polypiers » et « aloès » d'une taille excessivement réduite (fig. 13).

La force centrifuge n'empêche donc nullement les croisances physico-chimiques, à condition d'être produites par

des substances peu friables. Ces croissances s'écartent d'autant plus de la normale que les vitesses sont plus grandes. Elles ne semblent utiliser pour leur édification qu'exceptionnellement les parois des tubes, contrairement aux croissances témoins. Leur aspect général devient de moins en moins rectiligne.



A côté de l'osmose, il existe, pour régir la matière, une autre force des plus importantes : la diffusion¹. C'est une véritable tendance qu'ont les liquides à se déplacer des endroits où la pression est faible vers ceux où elle est plus grande, jusqu'à production d'une égalité entre tous les points.

Les karyokynèses artificielles, réalisées ici-même à Lyon par Leduc au Congrès de l'A. F. A. S.², sont un merveilleux exemple d'osmose et de diffusion. Il aurait été fort intéressant

¹ On peut, d'ailleurs, considérer au fond la diffusion comme une forme de l'osmose.

² Août 1916.

de voir les effets de la force centrifuge sur ces phénomènes, malheureusement, l'horizontalité, la stabilité nécessaires à leur obtention, nous interdisaient toute expérimentation.

Nous avons simplement recherché ce qu'il advenait des cellules artificielles développées dans une centrifugeuse.

La grosse difficulté est de saisir le moment, puis le degré d'hydratation convenables. Si la gélatine est trop humide, tout



FIG. 14.

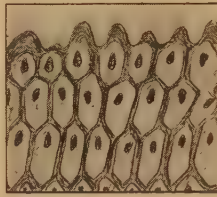


FIG. 15.

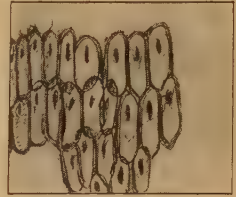


FIG. 16.

coule; si elle est trop sèche, les plus grandes vitesses ne peuvent produire aucune modification.

Les schémas 14, 15, 16, furent obtenus avec des plaques photographiques immergées très également dans l'eau distillée, puis parsemées de gouttes d'azotate d'argent.

Bien entendu, les tubes de la centrifugeuse doivent être bouchés soigneusement pour éviter tout dessèchement des lames de verre gélatiné.

Avec une vitesse de 80 tours environ, les cellules, au lieu d'être à peu près régulières¹ (fig. 14), s'allongent dans la direction périphérique (fig. 15), leurs noyaux s'étirent et parfois même les surfaces de diffusion finissent par chevaucher les unes sur les autres (fig. 16).

Nous avons toujours préféré le nitrate d'argent aux sels indiqués par les auteurs, parce qu'exposé à la lumière il acquiert une fine coloration permettant de distinguer les différentes zones d'accroissement.

¹ Pour obtenir d'une façon normale des cellules tout à fait régulières, il suffit de laisser tomber des gouttes bien égales en des points bien symétriques.

Les *microbioïdes* de Raphaël Dubois¹, réinventés sous le nom de radiobes par Burke de Cambridge, examinés plus tard par Douglas Rudge, se développent normalement dans la centrifugeuse lorsqu'on les ensemente très loin les uns des autres; au contraire, ils se contrarient, s'allongent, si les grains de baryum (chlorure) sont rapprochés et inégaux.

Ce sont là des faits qui semblent, au premier abord, sans grand intérêt. Mais, nous les avons signalés comme susceptibles d'éclairer au cours de ces recherches des phénomènes d'une haute complexité.

Voyons maintenant ce qu'il advient d'une membrane réelle soumise à la centrifugation.

Nos premiers dialyseurs furent à base de collodion enroulé couche sur couche autour d'un tube à essai formant moule. Mais, à moins de parois fort épaisses, d'où très peu perméables, il se produisait des écrasements suivis de déchirures.

Soit, en effet (fig. 17), un dialyseur (3) plongé dans un tube d'eau distillée (1).

¹ C'est à tort que l'on a prétendu que par ses recherches sur la synthèse du *bioprotéon* ou substance vivante, le professeur Raphaël Dubois a voulu combattre les idées de Pasteur sur la génération spontanée, et faire croire qu'il avait pu créer des êtres vivants. Ceux qui confondent ou paraissent confondre la question de la génération spontanée avec celle de la synthèse biologique sont des ignorants ou des gens de mauvaise foi ainsi que l'écrivait M. Dubois dans un livre récent (*La Vie et la Lumière*, chez Alcan, Paris, 1914).

« Si la vie a eu un commencement, si elle n'a pas été, contrairement à ce que tout semble prouver, le résultat d'une évolution insensible continue de certains éléments cosmiques, il y a eu, à un moment donné, génération spontanée. Mais, les impérissables expériences de Pasteur ont montré que là où on avait détruit ou enlevé les germes vivants, la vie ne reparaisait plus, au moins dans les conditions définies par les panspermistes et par leurs adversaires. Toutefois, est-ce le propre des êtres vivants de ne point apparaître dans de telles conditions? Aucunement. En effet, on ne voit pas davantage se former spontanément des productions plus simples, des composés organiques tels que l'urée, la vanilline, l'acide tartrique, l'alcool, etc., etc., et les chimistes du commencement du siècle dernier soutenaient que seuls les êtres vivants pouvaient engendrer les produits organiques. Aujourd'hui c'est par milliers qu'on fabrique ces derniers par synthèse. Il n'y a pas de raison pour qu'il n'en soit pas de même demain pour la substance vivante et ce sera la condamnation des savants qui confondent actuellement la *synthèse biologique* avec la *génération spontanée* et combattent avec les

Une vitesse un peu grande amène l'écrasement de (3) contre (1), d'où l'expulsion du bouchon (2).

Bien que plus solide, le xanthate de cellulose ne répondit pas à nos désirs.

Après divers tâtonnements, les membranes de Schleicher et Saill, fort résistantes et très employées dans les laboratoires, nous donnèrent d'excellents résultats.

Voici notre façon de procéder : il faut choisir deux mem-



FIG. 17.

branes de même diamètre, même hauteur, même poids, les laisser se gonfler pleinement dans un récipient d'eau distillée par un séjour rigoureusement égal. Sans cette précaution préalable, toute ligature sérieuse est impossible.

Lorsque les tissus sont bien imprégnés, nous remplissons

mêmes armes deux choses essentiellement différentes, qu'ils s'obstinent à frapper aveuglément par le même anathème. La synthèse biologique naîtra d'une connaissance plus approfondie, plus exacte de la nature intime de la substance vivante et de ses propriétés physico chimiques.»

M. Raphaël Dubois a défini nettement ce qu'on devait entendre par le mot *microbioides* qu'il a créé pour désigner des formations qu'il obtient artificiellement et qui ne sont ni des cristaux, ni des corps amorphes, mais des corpuscules *organisés* présentant presque toutes les propriétés caractéristiques des *organismes vivants*, mais incapables pourtant, pour l'instant tout au moins, de donner naissance à des générations successives d'êtres vivants semblables à eux-mêmes. Pour plus amples renseignements, nous renvoyons le lecteur que cette question pourrait intéresser à la note de M. R. Dubois, présentée par le professeur Henneguy, à l'Académie des sciences, dans sa séance du 6 novembre 1911, intitulée : *Sur les microbioides*.

les dialyseurs (*d*) du liquide à essayer, puis les fermons avec des bouchons bien secs (*b*) (fig. 18).

Le liège, en se dilatant, augmente encore l'occlusion.

Pour parfaire l'obturation, il convient de rejeter les liens métalliques et d'employer un fil de chanvre très rétractile une fois mouillé et déshydraté.

Ne pas oublier de placer au fond des récipients de la laine



FIG. 18.

de verre (*l*). Le coton risquerait en effet par ses impuretés de fausser les réactions ultérieures.

Enfin, pour être certains de la stabilité du système, le fil de chanvre (*f*), une fois arrêté, devra se fixer au bouchon de l'éprouvette (*g*) sans être ni lâche, ni trop tendu. Tout écrasement du dialyseur, toute fuite, sont ainsi écartés.

Les témoins seront disposés dans des conditions identiques d'immersion, de température, etc.

Voici ce qu'il nous a été permis d'observer :

Une solution bien homogène de sucre fut répartie entre quatre dialyseurs plongeant dans l'eau distillée.

Après dix minutes, les témoins n'ont pas laissé passer de sucre dans le milieu ambiant.

Au contraire, les deux membranes centrifugées à 2.600 tours laissèrent passer suffisamment de sucre pour donner un beau précipité à la liqueur de Felhing.

En substituant à l'eau distillée une solution de chlorure de sodium isotonique à celle du sucre, nous avons obtenu des résultats de même ordre.

La centrifugation active donc considérablement les échanges sucre > sel et sel < sucre.

Grâce à un dispositif légèrement modifié, il nous fut loisible de remplacer les parois de Schleicher et Saill par le septum tapissant la coquille des œufs de poule.

Pour réaliser l'expérience (fig. 19), il suffit de préparer un tube de verre (*b*) en creusant près d'une extrémité deux traits de lime. Ces sillons recevront le septum (*d*) et sa ligature. Une couronne de liège (*e*), des tampons de laine de verre (*c*) pour stabiliser le dialyseur dans le vase à centrifuger (*a*), terminent les précautions à prendre.

Comme précédemment, les échanges sont moins marqués dans les tubes témoins que dans les tubes centrifugés. D'autre part, le courant endosmotique¹ est particulièrement intense des dialyseurs au liquide ambiant lorsque la face interne du septum est tournée en dedans.

* * *

Au cours de cette étude, nous signalerons souvent l'importance du facteur temps.

Dans les cas ci-dessus rapportés, cette influence de la durée apparaît très nette.

C'est-à-dire qu'il si une force *A* agit pendant dix minutes et fait passer au travers d'une membrane *x* grammes de sucre,

¹ Dutrochet nommait endosmose le courant de dehors en dedans, exosmose celui en sens inverse.

Depuis longtemps « endosmose » indique simplement le courant le plus fort. Nous adoptons cette manière de voir.

une force $\frac{A}{2}$, après vingt minutes, aura fait passer une quantité de produits différents de x et plus grande que x .

C'est là une loi générale.



FIG. 19.

De même, une force $\frac{A}{3}$, après une demie heure d'action, aura fait passer encore plus de produits que $\frac{A}{2}$.

*
**

L'accentuation des phénomènes osmotiques croit sous l'influence de la force centrifuge, même en utilisant des membranes naturelles¹, et nous verrons dans un prochain chapitre que, chez les êtres vivants, les choses se comportent semblablement.

Enfin, quelques expériences réalisées avec des segments de jugulaires pleins de sang, montrèrent qu'un fragment de veine ne donne rien, s'il est centrifugé dans du sérum tonique, mais colore tout milieu hypotonique. Les témoins restent intacts.

¹ Septum des coquilles d'œufs. . . épicarpe de pêche. . .

Comme le démontre l'examen microscopique, l'hémoglobine seule a passé au travers des parois veineuses. D'autre part, tandis que dans le cas de centrifugation en liquide tonique, le caillot obtenu forme un bloc, celui né en solution hypotonique apparaît comme disloqué.

A de grandes vitesses (3.900 tours pendant quarante-cinq minutes), la centrifugation produit donc un laquage.

Pour réaliser ces expériences, il faut de grandes précautions. Les extrémités des segments veineux doivent être solidement ligaturées. On doit à plusieurs reprises s'en assurer, en laissant tremper le vaisseau dans l'eau pour voir s'il ne la rougit pas. D'autre part, afin d'éviter un écrasement contre le fond du tube de la centrifugeuse, la ligature supérieure doit être fixée au bouchon obturant ce vase.

* * *

Les liquides et les membranes étudiés en soi, nous pouvons aborder logiquement les résultats de nos travaux sur la cellule.

CHAPITRE III

EFFETS DE LA FORCE CENTRIFUGE SUR LA CELLULE

Chacun sait que les tissus animaux ou végétaux sont formés par l'accolement de cellules. Celles-ci apparaissent comme de petits organismes dont la juxtaposition, puis la systématisation constituent des tissus, des systèmes, plus ou moins compliqués.

Nous connaissons déjà comment les pseudo-cellules chimiques se comportent sous l'influence de la centrifugation, voyons maintenant ce qu'il advient des cellules véritables semblablement traitées.

Leurs espèces sont nombreuses, mais sans nous arrêter à telle ou telle variété, nous supposerons une cellule type composée d'un contenant (membrane) et d'un contenu (protoplasme, noyau, etc.). Pour étudier les effets subis par ces différentes parties, nous choisirons les organismes se prêtant le mieux à des recherches sur chacune d'elles prise en particulier.

Nous n'en sommes pas encore à examiner un être monocellulaire, mais une cellule en soi. Opérer sur un seul élément serait bien difficile.

Aussi, avons-nous eu recours à des masses cellulaires

homogènes dont l'ensemble peut se comparer dans ses propriétés à celles d'une des parties constituantes.

Le tubercule des Pommes de terre est commode pour expérimenter. Certaines variétés de ces plantes, les « négresses » les « rates », peuvent même, grâce à leur forme allongée, à leur diamètre étroit, entrer dans toutes les centrifugeuses courantes. La Carotte présente les mêmes avantages.

Il faut s'abstenir d'utiliser de gros tubercules ou racines sectionnés à la taille des appareils, car les lésions sont autant de causes d'erreur dans bien des cas.

Avant la mise en marche du moteur, Pommes de terre ou Carottes doivent être délicatement protégées par du coton, de façon à leur éviter toutes blessures susceptibles, elles aussi, de fausser les résultats.

Ces précautions prises, on constate qu'une demi-heure de rotation à 2.600 tours suffit à mouiller fortement l'extérieur des tubercules et racines traités.

L'analyse, nous le verrons dans un instant, démontre qu'il ne s'agit pas d'eau pure. Le liquide ainsi apparu contient de nombreux principes (sels, sucres, ferments, suivant les cas).

Cette expulsion de divers principes au travers des parois cellulaires est suffisamment marquée pour permettre des dosages.

Prenons par exemple 10 grammes de substances aux deux extrémités d'une Pomme de terre centrifugée trente ou quarante minutes entre 2 et 3.000 tours.

Broyons finement dans un peu d'eau chacun de ces échantillons. Décantons, filtrons et dosons avec la liqueur de Fehling.

Les résultats de l'analyse montrent une quantité de sucre bien plus élevée dans le bout périphérique¹. La différence entre les deux extrémités dépasse le centigramme.

¹ Rappelons que le bout périphérique est le plus éloigné du centre de la centrifugeuse.

Nos premières mesures furent obtenues par le procédé Morel, déjà signalé¹.

Mais de nombreuses pesées d'oxydules de cuivre, exigeant pour être pratiques un outillage spécial, nous avons exécuté divers dosages à la burette par le procédé des liqueurs titrées, de manière à voir comment s'effectue le passage du sucre au travers des membranes.

A 2.600 tours on constate :

Qu'en un quart d'heure une quantité (a) de sucre est passée dans l'extrémité périphérique du tubercule;

Qu'en une demi-heure la quantité passée n'est pas $=$ à $2a$, mais à $2a + b$. Qu'en une heure elle ne correspond point à $2(2a + b)$, mais à $2(2a + b) + c$, cela se continue jusqu'à une heure et demie environ.

A partir de ce moment, c'est à peine si de quinze minutes en quinze minutes, il se produit une augmentation.

Bientôt le chiffre du sucre reste stationnaire quelle que soit la durée de l'opération.

Cependant, un fragment du bout central de la Pomme de terre, donne encore une réaction très nette avec le Fehling.

Ces mesures, bien entendu, sont relatives et ne valent que par leur ensemble. Il serait, en effet, impossible de comparer rigoureusement les chiffres, puisque tous se rapportent à des tubercules différents.

Une centrifugation moins rapide (500 tours) et très longue (six jours) donne des résultats semblables. L'extrémité centrale s'appauvrit, mais dans des proportions infiniment moindres qu'avec une rotation de 2.600 tours.

Pendant ces actions lentes, il importe d'hydrater l'enceinte où tourne la centrifugeuse, sans quoi les Pommes de terre se flétrissent et se dessèchent.

Non seulement ces faits montrent la perméabilité des parois

¹ Cf. chapitre premier : HISTORIQUE.

cellulaires et confirment les variations d'osmose observées *in vitro*, mais encore ils permettent de tirer quelques conclusions relatives au protoplasme.

On peut résumer ainsi :

La force centrifuge modifie la densité des sucres bioprotéiques¹ et partant leur point de congélation et leur tension superficielle.

A côté de ces changements d'ordre physico-chimique, il en est aussi de morphologiques.

Les grains d'amidon, par exemple, sont influencés par la centrifugeuse jusqu'à en perdre certains caractères spéciaux.

Une planche ci-jointe (pl. 20) résume les divers points observés.

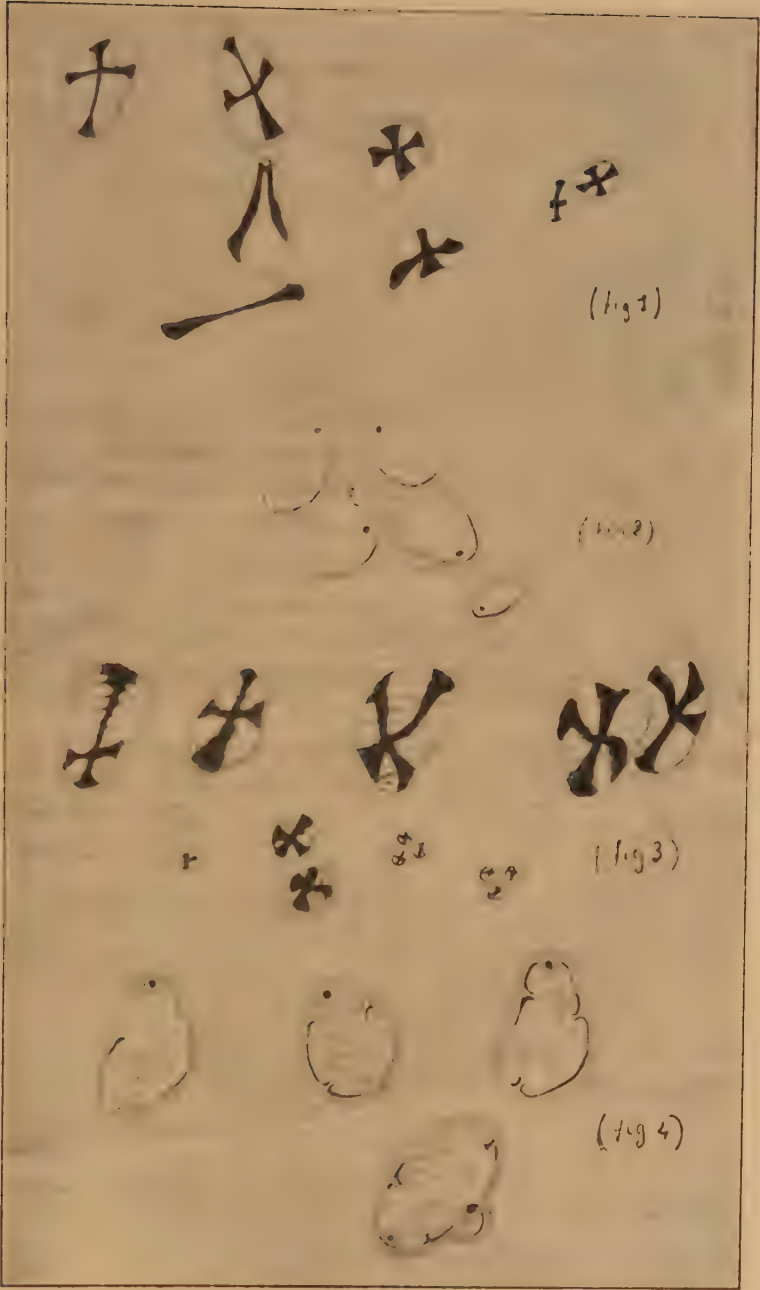
La figure 1 représente des grains recueillis dans l'extrémité périphérique d'une Pomme de terre traitée. Vus en lumière polarisée, ils montrent nettement leurs contours, mais ont perdu leurs stries caractéristiques. C'est à peine quand de loin en loin se rencontre une exception. Les croix apparaissent comme normales, plus ou moins allongées, plus ou moins raccourcies, suivant l'orientation des éléments considérés.

Le schéma 2 reproduit les mêmes grains, mais en lumière naturelle. Seul encore cet estompage des stries les différencie des normaux.

Quant aux dessins 3 et 4, ils figurent de l'amidon provenant de l'extrémité centrale d'une Pomme de terre centrifugée. Les nicols croisés ne révèlent aucune modification, tandis que parallèles ils permettent d'observer avec un éclairage approprié des petites saillies de la face interne de la couche périphériques. Ces saillies donnent des crochets accolés dos à dos en X. Pour le savoir, il faut une luminosité plutôt faible.

Ces plissements sont sans rapport avec les croix de polarisation.

¹ Bioprotéon égale synonyme de protoplasma. Cf. R. Dubois, *Livre jubilaire du professeur Richet*, 1912.



Pl. 20.

Les Pommes de terre, très commodes pour l'examen des membranes, du sucre, se prêtent mal à l'observation du noyau et autres parties connexes.

Pour ces recherches, le mieux semble de s'adresser à des cellules végétales de forte taille susceptibles d'être vues sans coloration.

Celles de l'épiderme du bulbe d'Oignon, très translucides, nous furent précieuses (fig. 21).



FIG. 21.

FIG. 22.

Il suffit de déposer un fragment d'épiderme entre deux porte-objets bien attachés, puis de centrifuger le tout dans l'eau, vingt minutes à 2.000 tours.

Le protoplasme apparaît alors comme condensé au fond de chaque cellule et, chose curieuse, se termine non horizontalement, mais toujours en ménisques concaves. Souvent le noyau suit le protoplasme, mais parfois reste isolé au milieu de la cavité. Il suffit d'ailleurs de porter la vitesse à 2.600 tours pour obtenir la précipitation de ces derniers éléments non entraînés (fig. 22).

A ce moment, il persiste dans les parties périphériques de la cellule toute une série de trémulations intenses. On voit une foule de petites particules régulièrement disposées s'agitant encore après l'action de la centrifugeuse. Ces phénomènes sont d'ordre moléculaire et dus aux mouvements browniens.

Ceux-ci ne sont pas causés par l'activité propre de la substance vivante; ils ne sont point actifs, mais passifs. Seuls les petits chocs qu'exercent sur les granulations les molécules liquides rebondissantes les font naître. Nous sommes redevables de cette conception à Wiener¹. M. Gouy, le savant physicien lyonnais, l'a reprise et complétée plus tard².

Rappelons qu'à côté de ces trémulations, il existe d'autres déplacements passifs de particules. Ce sont les mouvements duboisiens³, d'une amplitude beaucoup plus grande et de trajectoire curviligne. On ne les rencontre pas chez les Spirogyres. Les mouvements browniens durent longtemps. Ils disparaissent vingt-quatre à trente-six heures après la décomposition de l'organisme.

Semblable résistance à la force centrifuge était à signaler, car elle montre bien la puissance des phénomènes moléculaires.

Il nous a été donné de voir dans les plantules de Cousse soumises à une centrifugation, lente mais très longue⁴, certains stades mitotiques anormaux. Le noyau, avant toute division, se présentait sous un aspect allongé. Tout porte à croire qu'il s'agissait d'un individu resté accolé aux parois voisines, comme ceux signalés dans l'épiderme d'Oignon.

Les feuilles d'*Elodea canadensis* sont excellentes pour étudier les variations subies par les grains de chlorophylle au sortir de la centrifugeuse. La technique reste la même que pour l'épiderme d'Oignon.

Comme le montre la figure 23, dix minutes de traitement à 2.000 tours suffisent à les entraîner. Si l'action subie ne dépasse pas deux minutes à 1.200 tours, le groupement naturel est à peine ébranlé et, dans ce cas, plusieurs d'entre

¹ Wiener, Erklärung des atomistischen Wesens des tropfbarflüssigen Körperzustandes, etc. (*Poggendorff's Annalen*, vol. CXVIII, 1863).

² Gouy, *Journ. de Physique*, 1888, t. VII.

³ Cf. Russo, thèse sciences, Lyon 1912.

⁴ 8 jours à 200 tours par minute.

eux reprennent leur place primitive après quelques instants de repos.

Malgré les précipitations les plus complètes, les plus énergiques, ces grains conservent leur taille, leur forme et ne se distinguent en rien des Chloroleucites normaux.

Il nous parut dès lors intéressant d'examiner les chromatophores si faciles à observer chez les Spirogyres.



FIG. 23.

Parmi les nombreuses plantes qui forment une écume verdâtre à la surface des eaux, la plus commune est souvent le Spirogyre. Leur teinte spéciale, leur toucher légèrement savonneux permet, en outre, de les reconnaître aisément et d'obtenir ainsi une grande quantité de matériaux d'études. Cela est important. Seules, en effet, les Algues fraîches fournissent des résultats constants.

Deux mots d'abord sur la constitution normale du Spirogyre. La plante forme un ensemble de filaments cylindriques, sans ramifications, composés de cellules allongées recouvertes d'une membrane cellulosique transparente. Au centre, il existe des vacuoles assez volumineuses qui réduisent le protoplasme à une simple couche mince, incolore, tapissant les parois pour donner une utricule primordiale. Cependant le protoplasme forme encore une petite masse irrégulière unie à la couche périphérique par des tractus très fins. C'est au centre de cet amas que se trouve le noyau. Une ou plusieurs bandes spiroïdes verdâtres constituent les chromatophores renfermant de nombreux pyrénoides.

Voyons ce que devient cette organisation quand la plante est soumise à la force centrifuge.

Même technique toujours que pour les feuilles d'*Elodea*, d'*Oignon*, etc., mais il faut avoir soin de peigner les Algues entre les lamelles de manière à les orienter dans un sens déterminé.

Des examens successifs plus ou moins prolongés, plus ou moins rapides pratiqués, il résulte que :

Au sortir de l'appareil, on remarque un aspect spécial des chlorothallées, déjà visible à l'œil nu. Les filaments sont pâles; inclinés à jour frisant, ils donnent l'impression d'un réseau; de fines stries produisent des jeux de lumière.

Cinq minutes de traitement à 600 tours commencent à ébranler tout l'intérieur de la cellule; cinq minutes à une vitesse double compriment le chromatophore comme un ressort à boudin, cependant que les travées protoplasmiques semblent s'opposer à son écrasement, parfois même chaque chose reprend petit à petit sa place (fig. 24, a).

Nos expériences étaient terminées déjà lorsque nous avons trouvé sur cette question des travaux allemands de date récente¹. D'ailleurs, leur auteur examine uniquement le déplacement du chromatophore et son retour à l'état primitif.

D'autre part, Schmidt indique des formes spéciales que jamais il ne nous fut donné de rencontrer. Dans un instant, nous opposerons sa manière de voir à la nôtre.

Dix minutes de centrifugation à 2.000 tours entraînent presque tout à fait le chromatophore, le noyau et le protoplasme. Enfin, vingt minutes suffisent à former, du chromo-leucite considéré, une boule (fig. 24, c).

Que conclure de ces faits ?

Deux hypothèses s'offrent à l'esprit : ou bien c'est le protoplasme qui entraîne le chromatophore, ou bien c'est ce dernier

¹ Cf. *Index bibliographique*, n° 56; et *Index bibliographique*, n° 2, 1914, A. Maillefer.

qui possède une élasticité propre lui permettant d'allonger ou de redétendre les filaments bioprotéoniques réunis à lui. Dans ce dernier cas, le rôle joué par les cordons de bioprotéon serait donc purement fictif et dû à une simple illusion d'optique.

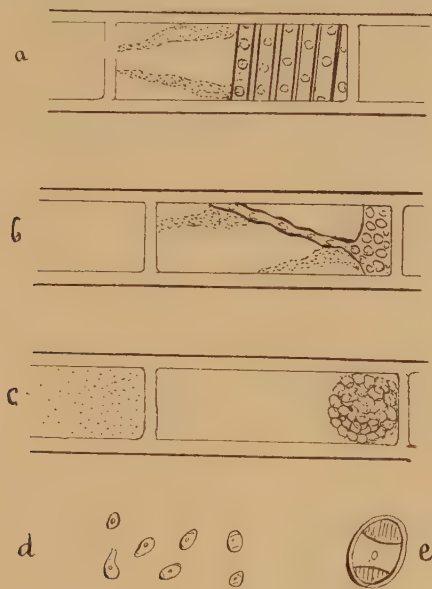


FIG. 24.

a, tassement d'un chromatophore, deux travées protoplasmiques sont visibles; b, le chromatophore est écrasé; c, chromatophore mis en peloton; d, fragments de chromatophores; e, fragment très grossi.

Cette élasticité est de courte durée. Très vite le chromatophore s'écrase (fig. 24, b).

D'autre part, la possibilité de se condenser sous forme d'un peloton semble montrer que le chromatophore n'est pas soutenu par des couches très résistantes. Une fois comprimé, il devient un corps inerte et se met en magma sphérique comme le ferait une substance malléable quelconque.

Si l'on examine le chromatophore, soit au début, soit

à la fin de ce déplacement, on constate encore sa structure rubanée.

Mais, observé après une brusque centrifugation à 2.900 tours, il apparaît alors comme décomposé en un grand nombre de grains. La figure 24, *d*, montre très nettement une série de corpuscules verts aux contours réguliers, entourés d'une zone plus dense, présentant l'aspect d'une véritable membrane. La taille de ces petits éléments varie du simple au triple. Les plus gros ovalaires présentent à chaque extrémité un segment plus pigmenté que le reste (fig. 24. *e*). Tous possèdent en leur centre un pyrénocle.

Il semble logique de considérer ces formations comme des chloroleucites. S'il en était vraiment ainsi, la texture des corps verts des algues apparaîtrait comme constante, mais comment expliquer la disposition particulière du chromatophore? L'examen de préparations faites à divers stades permet de supposer les chloroleucites réunis par une gaine protoplasmique plus solide que le bioprotéon voisin.

Cette gaine nécessiterait une force violente pour être disloquée, séparée en ses parties constitutives d'abord, puis se condenserait à la fin sous forme d'une sphère déjà décrite.

D'autre part, l'élasticité, la cohésion du protoplasma sont suffisantes pour permettre le tassement des spires ou leur détente. Mais ces mêmes propriétés ne sauraient autoriser un relâchement du ruban comprimé avec trop d'insistance.

Parfois, on rencontre des fragments de chromatophore moins bien individualisés que les précédents. Il convient de le signaler. Rien ne prouve, d'ailleurs, que ces fragments ne sont pas simplement formés de chloroleucites mal séparés les uns des autres.

Ces opinions semblent intéressantes à émettre, mais nous laissons aux botanistes professionnels le soin de trancher la question.

Pour Schmidt, l'auteur signalé plus haut, les choses sont bien plus simples. Le chromatophore est un véritable ressort à boudin qui s'écrase avec une centrifugation suffisante, puis

revient à sa position naturelle. Nous croyons avoir montré l'impossibilité de généraliser une telle assertion.

Que l'on accepte ou non l'hypothèse du chromatophore agrégat de leucites, il faut du moins lui reconnaître des façons multiples d'être influencé par la force centrifuge. Très bénignes, les lésions peuvent se réparer. Un peu plus accentuées, c'est-à-dire poussées jusqu'au tassement définitif des spires, elles ne causent point la mort; accentuées jusqu'à la formation sphérique d'un peloton chlorophyllien, elles entraînent une fin prématurée des Algues.

Il appert de nos recherches sur les Spirogyres, l'Elodea, l'Oignon, le Houx, que protoplasmes, noyaux ou leucites sont d'autant plus faciles à déplacer dans la cellule que le pourcentage d'eau y est plus élevé.

A propos des zymases, nous avons eu l'occasion de parler déjà des vacuolides découvertes par notre maître Raphaël Dubois et assimilées par lui aux mitochondries et aux leucites.

A l'heure où les mitochondries jouent un si grand rôle dans le mécanisme intime de la cellule, il nous a semblé logique d'examiner ce qu'elles deviennent après centrifugation.

Cette dernière les entraîne, et jamais on ne les aperçoit restant accolées comme le noyau contre les parois.

Pour observer ces phénomènes, il n'est pas toujours nécessaire d'utiliser des colorants. Les méthodes classiques de Benda, de Meves sont longues; la plus pratique, celle de Regaud¹, demande encore des précautions considérables.

Mieux vaut donc recourir aux jeunes bourgeons teints, susceptibles d'être examinés sans artifice aucun.

¹ On peut la résumer comme suit : fixer l'objet dans un mélange de 80 parties de bichromate de potasse à 3 pour 100 et de 20 parties de formol, changer le liquide tous les jours, après la quatrième journée, le laisser une semaine dans MnO^4K à 3 pour 100, laver vingt-quatre heures à l'eau courante.

Il importe alors d'obtenir des coupes très fines, de les mordancer toute une journée dans l'alun ferrique à 5 pour 100, puis de les colorer vingt-quatre heures à l'hématoxyline et enfin de les différencier à l'alun ferrique. Cette dernière opération doit se faire sous l'objectif du microscope de façon à l'arrêter juste au moment favorable.

Il importe de centrifuger des feuilles aussi minces que possible et d'examiner l'extrémité d'une dentelure. Sans cette précaution, le meilleur objectif serait inutilisable.

Contrairement aux mitochondries, les gouttelettes d'anthocyane dont elles dérivent¹ sont très difficiles à condenser à la base des cellules. A peine les plus petites sont elles légèrement entraînées avec le protoplasme. Elles « coulent plutôt avec lui ».

Une platine à double vernier est indispensable pour localiser tel ou tel point, puis le retrouver sans peine au sortir de la centrifugeuse. La chose est des plus importantes pour éviter des erreurs faciles, tant une dent de feuilles renferme de stades évolutifs variés.

*
* *

De ces quelques exemples, il ressort que la centrifugation agit sur la cellule comme elle agit sur les solutions et sur leur passage au travers des membranes isolées expérimentalement.

Sous son action, les phénomènes osmotiques augmentent d'intensité; les principes du bioprotéon se concentrent et traversent plus ou moins les parois.

Protoplasmes, noyaux, vacuolides, tout lui obéit.

Contrairement aux assertions émises avant nous, on ne peut impunément modifier l'architecture cellulaire.

C'est seulement lorsque les modifications sont légères, à peine ébauchées, qu'on les trouve fugaces. Profondes, elles amènent la mort rapide des organismes traités.

¹ Cf. Guilliermond, *Revue générale de Botanique*, t. XXV bis, 1914, et *C. R. Académie des Sciences*, t. CLXI, p. 494, 26 oct. 1915.

CHAPITRE IV

EFFETS DE LA FORCE CENTRIFUGE SUR LES ÉLÉMENTS SEXUELS, LES GRAINES ET LES ŒUFS

Puisque la force centrifuge est — nous le savons — susceptible d'agir sur « la cellule, en général », voyons si elle peut aussi modifier des éléments bien systématisés (spermatozoïdes, ovules, pollen, par exemple) et des organismes à l'état d'œufs ou de graines.

Jusqu'à présent, les lésions produites apparaissaient nettement. Nous les avons décrites. Tandis que, dans les chapitres à venir, nous serons beaucoup moins arrêté par les lésions (souvent invisibles) que par leurs conséquences.

*
* *

Spermatozoïdes. — Les spermatozoïdes supportent dans les liquides appropriés (urine, sérum physiologique) des pressions énormes sans être détruits.

L'*Ascaris megalocephala* facilite beaucoup les expériences portant sur les éléments sexuels. Non seulement de fortes tailles, ces derniers sont chez lui, des plus commodes à trouver,

vu la simplicité de l'appareil génital mâle, formé d'un tube unique, dont le diamètre croît insensiblement de son extrémité aveugle vers son embouchure. Il suffit d'en examiner le contenu aux différents points pour établir la succession des phénomènes évolutifs.

Van Beneden, à qui nous devons les plus beaux travaux sur la question, reconnaît que le tube sexuel mâle de l'*Ascaris megalocephala* renferme quatre organes déjà distingués par von Siebold chez d'autres Nématodes (testicule, canal déférent, vésicule séminale, canal éjaculateur). Chacun d'eux se caractérise aussi bien par la structure de sa paroi que par son contenu. Le testicule comprend trois parties bien nettes : la région terminale est le lieu de formation des spermatogonies. Dans la région moyenne, les cellules très réduites grandissent, subissent des changements, d'où résulte leur maturation progressive. Dans la région inférieure, chaque spermatogonie se résout en quatre spermatocytes qui restent unis entre eux de façon à former un spermatogemme. Chaque spermatocyte engendre une portion cytophorale vers le centre du spermatogemme, et les quatre parties cytophorales constituent ensemble un cytophore¹.

Au moment de pénétrer dans le canal déférent, les spermatozoïdes deviennent libres et se modifient de façon à prendre petit à petit les caractères qu'ils affectent dans la vésicule séminale.

Ce sont là des dispositions précieuses permettant d'observer toute la lignée spermatique. Après centrifugation, soit courte, mais rapide (une demi-heure à 2.600 tours), soit lente, mais longue (deux jours à 500 tours).

Qu'advient-il?

Les spermatozoïdes de l'*Ascaris* demandent à être comparés de très près les uns avec les autres, car leur contexture diffère

¹ Van Beneden, la Spermatogénèse chez l'*Ascaris* (*Bulletin Académie Royale des Sciences, Lettres et Beaux-Arts de Belgique*, 1884).

tellement de celle rencontrée chez d'autres Animaux que l'on éprouve quelques difficultés à les analyser.

Ils semblent en effet ne pas pouvoir remuer. Ils n'ont pas de queue, sont conoïdaux, formés d'une partie granuleuse contenant un petit corps sphérique de substance nucléaire et d'une partie réfringente¹.

L'immobilité n'est pas absolue cependant, l'extrémité basilaire pouvant, d'après Schneider, exécuter des mouvements amœboïdes. Ces mouvements sont en tout très difficiles à voir.

La centrifugation, quelle que soit sa nature, ne modifie en rien les spermatozoïdes. Et aucune phase de leur évolution ne semble troublée.

Chez les Mammifères, la cellule mâle se différencie davantage. On peut la ramener à trois parties : une tête, une pièce intermédiaire et un filament contractile ou queue.

Aussi, plus complexes, ces spermatozoïdes subissent-ils légèrement l'influence de la force centrifuge. Sans être modifiés en eux-mêmes, ils perdent leur mobilité ou, du moins, la voient se réduire considérablement. Chez les Vertébrés, on expérimente aisément sur ces cellules en les plaçant dans du sérum physiologique ou de l'urine².

Ovules. — Quant à la cellule femelle, prise en soi, elle présente pour nous peu d'intérêt. Plusieurs auteurs, en effet, étudièrent, voici longtemps déjà, ses changements par suite de la centrifugation. Nous en reparlerons d'ailleurs bientôt à propos des œufs fécondés.

¹ Pour détails, voir : Oscar Hertwig, *Traité d'Embryologie*, traduction Julin, chez Reinwald, 15, rue des Saint-Pères, Paris.

² N'ayant pu obtenir des fécondations artificielles d'animaux élevés dans la série (lapins, cobayes), nous pensions instituer une suite d'essais sur des poissons. Au début de la guerre nos sujets périrent faute de soins.

Plus récemment, nous avons à nouveau préparé trois élevages de carpes, l'un formé de sperme centrifugé et d'ovules normaux ; l'autre de sperme normal et d'ovules centrifugés, le dernier, enfin, de sperme et d'ovules centrifugés.

Un pisciculteur sur lequel nous comptions, mobilisé brusquement, dut fermer son établissement avant que nous ayons réalisé nos essais.

Pollen. — Comme l'on peut s'en rendre compte par l'examen du tableau (25), les plantes issues d'ovules normaux fécondés par un pollen fortement centrifugé n'offrent pas de différences appréciables avec les témoins.

PLANTES A POLLEN NORMAL						PLANTES A POLLEN CENTRIFUGÉ					
	Hauteur tiges	Longueur feuilles	Largeur feuilles	Nombre fleurs	Poids, tiges et feuilles		Hauteur tiges	Longueur feuilles	Largeur feuilles	Nombre fleurs	Poids, tiges et feuilles
	cm.	cm.	cm.		gr.		cm.	cm.	cm.		gr.
1 ^{er} juillet	0,38	0,025	0,010	—	—	1 ^{er} juillet	0,46	0,033	0,015	—	—
	0,42	0,030	0,012	—	—		0,30	0,025	0,013	—	—
	0,35	0,023	0,010	—	—		0,27	0,025	0,014	—	—
10 —	0,50	0,04	0,019	—	—	10 —	0,58	0,047	0,022	11	—
	0,56	0,045	0,020	—	—		0,47	0,038	0,015	—	—
	0,49	0,036	0,013	—	—		0,44	0,035	0,016	10	—
20 —	0,66	0,068	0,032	15	—	20 —	0,70	0,073	0,030	13	—
	0,61	0,071	0,031	9	—		0,64	0,070	0,031	14	—
	0,63	0,070	0,030	18	—		0,60	0,068	0,030	15	—
31 —	0,89	0,075	0,032	17	—	31 —	0,86	0,080	0,043	19	—
	0,83	0,075	0,033	11	—		0,79	0,076	0,034	75	—
	0,78	0,076	0,039	18	—		0,79	0,076	0,033	16	—
10 août.	1,05	0,089	0,043	17	—	10 août.	1,00	0,085	0,041	23	—
	1,00	0,090	0,047	15	—		0,92	0,079	0,037	19	—
	0,96	0,092	0,049	22	—		0,90	0,080	0,042	16	—
20 —	1,13	0,11	0,05	20	—	20 —	1,16	0,14	0,06	23	—
	1,10	0,096	0,043	15	—		1,09	0,098	0,043	21	—
	1,04	0,14	0,06	22	—		1,06	0,110	0,058	19	—
31 —	1,40	0,12	0,07	24	193	31 —	1,38	0,16	0,07	26	180
	1,33	0,11	0,055	20	182		1,36	0,13	0,06	21	188
	1,16	0,11	0,06	22	171		1,21	0,11	0,06	20	176

TABEAU 25.

Voici la façon de procéder. Nous avons récolté soigneusement des graines de *Tropæolum majus* et en avons fait deux lots. L'un, semé précocement dans le Midi, fleurissait au début de juillet. L'autre, cultivé à Lyon, n'arrivait à maturité que fin août. Le pollen du Gard centrifugé servit à féconder quelques-unes des fleurs lyonnaises.

Celles-ci formaient en effet deux groupes. L'un évolua librement, tandis que l'autre eut toutes ses étamines touchées à l'aphyso-cautère avant leur développement complet, puis, après, ses stigmates furent saupoudrés de pollen centrifugé.

L'année suivante, les graines des deux variétés furent semées dans un terrain amendé, travaillé au préalable de façon à obtenir une homogénéité complète.

Régulièrement espacées contre un mur tourné au levant, les plantes sont attachées à des tuteurs de 2 mètres dès leur poussée. Tous les dix jours, lorsque les pieds atteignent 40 centimètres environ, nous mesurons la hauteur de trois tiges issues d'un pollen normal et de trois tiges nées d'un pollen centrifugé, la largeur, la longueur des feuilles de chacune. Plus tard, nous comptons les fleurs et enfin pesons toute la végétation des témoins comme des sujets traités.

De ces mesures, aucune différence n'apparaît. Capucines normales et centrifugées sont comparables. L'action de la force centrifuge sur le pollen est donc nulle au point de vue fécondation.

L'examen microscopique des cellules mâles ne révèle d'ailleurs rien de spécial. Qu'il s'agisse de Capucines, de Lis, de Cèdres, de Magnolias, même après une heure de rotation à 2.000 tours, le pollen reste semblable.

Centrifugé pendant douze jours au sein d'une atmosphère humide, le seul fait intéressant réside en ce que, dans une solution sucrée, le tube pollinique réclame pour se développer une concentration plus forte qu'un grain normal. Sans quoi, il éclate comme le ferait ce dernier dans l'eau pure. Cela peut s'expliquer par une déshydratation violente des tissus¹.

Graines. — Avant de soumettre les graines à la rotation, il importe de les préparer. Il faut tout d'abord les choisir saines,

¹ Il aurait été intéressant d'expérimenter sur des fleurs à ovules centrifugés; mais la chose demanderait des appareils extraordinairement complexes pour être réalisée.

bien semblables entre elles, puis les hydrater plus ou moins, suivant l'épaisseur de leurs enveloppes. Nous avons déjà dit la grande utilité de l'eau, supérieure même à celle de l'oxygène. Sans ces précautions, la force centrifuge ne modifierait en rien les graines. Pendant leur vie latente ces organismes ne peuvent en effet répondre à un excitant quelconque.

Ainsi traités, les lots choisis sont placés dans la centrifugeuse au milieu d'une enceinte humide. Les grandes vitesses ne donnent rien, on ne peut les produire assez longtemps. Tandis que, après quatre ou cinq jours, des vitesses de 500 tours environ amènent chez les Fèves, les Haricots, les Courges, les Fléoles une perte de poids et une pigmentation marquée des téguments.

Ce changement de teinte est si sensible que chez les Fléoles une fois la plante poussée, on croit à une variation dans la teneur chlorophyllienne des sujets traités. Les graines colorent par dessous tiges et feuilles, vu la transparence de ces dernières.

Il s'agit d'une simple illusion d'optique. Des essais au microspectroscope permettent d'affirmer la parfaite identité des chlorophylles des lots centrifugés et des lots témoins.

On ne saurait attribuer ce phénomène à un dessèchement, puisque tout s'est passé en milieu très humide. A notre avis, il résulterait plutôt de la concentration des principes cellulaires au niveau de la membrane externe très peu perméable.

Quant à la perte de poids, elle est constante. Nous la signalerons plus tard sur les œufs d'Insectes et d'Oiseaux¹.

A côté de ces modifications dues à la centrifugation en elle-même, il en existe d'autres propres à telle ou telle manière d'utiliser la force centrifuge. Ainsi :

Une rotation de vingt-quatre à quarante-huit heures à 500 tours dans une enceinte convenable accélère le début des germinations.

¹ Cf. même chapitre.



Planche I.



Planche II.

Signalons à ce propos certains procédés de culture. Pour les Fléoles, nous espérions beaucoup de deux à trois doubles de flanelle blanche posés au fond d'une cuvette photographique. On obtient de cette manière des surfaces planes commodes pour comparer les pièces entre elles. Mais le moyen fut abandonné, la texture du tissu gênant la poussée normale des radicelles.

Tous nos essais eurent lieu dès lors sur des « germoirs » d'argile, des éponges et du papier buvard.

Si, jusqu'à quarante-huit heures environ, la force centrifuge accélère la végétation, plus prolongée elle devient au contraire nuisible et finit par arrêter toute vitalité.

Par exemple, des graines de *Cucurbita pepo*, centrifugées cinq jours durant à 500 tours dans des tubes pleins d'eau, puis semées sur buvard en même temps que des graines témoins traitées de manière identique, présenteront un aspect spécial.

Germées plus tardivement, ces plantes sont malingres ; leurs racines privées de poils absorbants ont grand'peine à les nourrir. Bientôt, les cotylédons se fanent, la tige se vrille puis s'affaisse.

Deux planches en couleurs ci-jointes montrent très bien cette morphologie des racines. Le numéro 1 représente le type normal, le numéro 2 le type centrifugé.

Sur ces photogravures, ce sont précisément les poils absorbants qui donnent l'aspect flou des racines naturelles, car, trop longs, ils perdent leur turgescence et bougent pendant une pose même très courte.

Les deux variétés sont, bien entendu, photographiées au même point de leur évolution. Les graines centrifugées poussées six jours après les autres furent prises six jours plus tard, de manière à rendre facile toute comparaison.

Plusieurs centaines de coupes en série nous permirent d'étudier organe par organe les jeunes plantules, normales ou non.

Dans la tige comme dans la racine, l'ordre des tissus n'est point altéré, la position des vaisseaux apparaît inchangée, mais ces organes sont considérablement plus petits que dans les témoins.

Rien à signaler chez les feuilles non plus. On pourrait s'attendre à des modifications protectrices en vue de garder

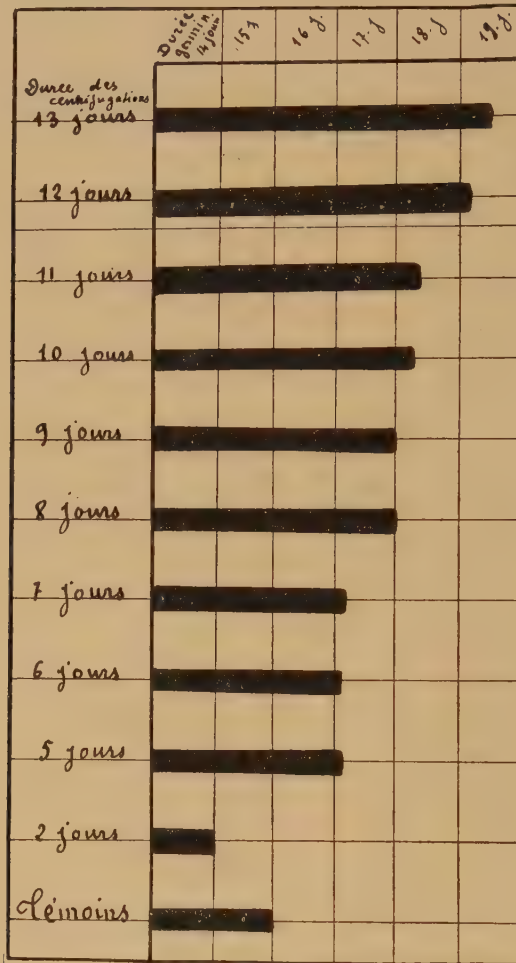


FIG. 26¹.

l'eau, par suite de la déshydratation préalable des tissus. Tout reste cependant normal dans l'épiderme. Les parenchymes ont la même forme et le même nombre de stomates.

¹ Dans le diagramme 26 nous avons appelé durée de germination le laps de temps mis par les embryons pour commencer à sortir des graines.

Mieux que de longues descriptions, les diagrammes 26 et 27 montrent certaines influences de la force centrifuge.

Germination de Fléoles T

(en décembre)

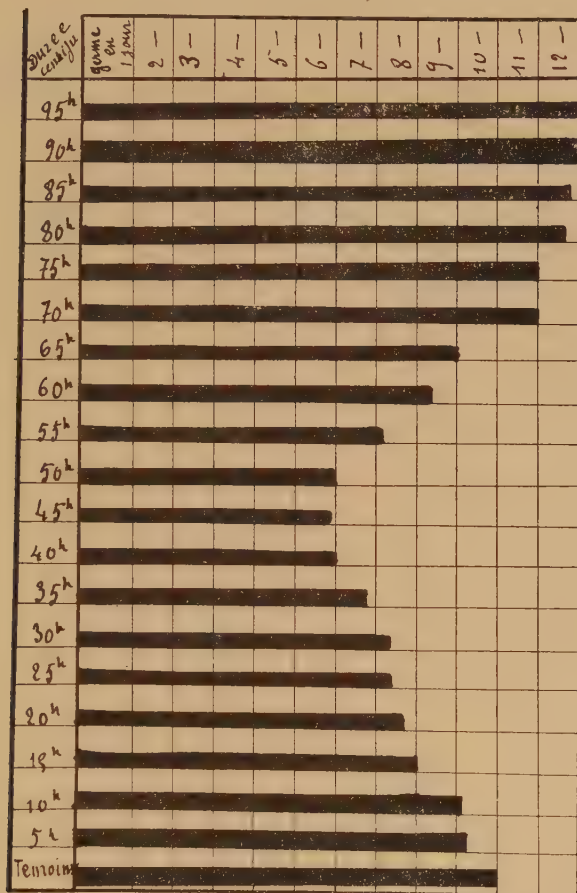


FIG. 27¹.

Dans le premier, nous voyons des graines de Courges convenablement préparées divisées en deux lots.

¹ L'expression « germe en 1, 2 jours », signifie que les jeunes plantes apparaissent après 24, 48 heures.

De ces deux lots, un sert de témoin, tandis que l'autre séparé, en plusieurs parts, sera centrifugé deux, cinq, six, sept, huit, neuf, dix, onze, douze et treize jours.

Mis à germer sous cloches, les échantillons normaux partent en deux semaines¹, ceux traités quarante-huit heures gagnent un jour, tandis que les autres sortent d'autant moins vite qu'ils ont tourné plus longtemps.

Le tableau 27 fournit des renseignements de même ordre, mais plus détaillés, à propos des Fléoles.

Ce graphique fait saisir le rôle accélérateur d'abord, retardateur ensuite, puis destructeur de la centrifugation.

Signalons enfin que, sur des milliers de Fléoles semées traitées de douze à vingt jours, vingt-sept graines seulement eurent un début de germination dans la centrifugeuse même.

Ces vingt-sept graines mises sur papier filtre mouillé, et sous cloches, s'étiolèrent après onze jours d'attente, sans avoir gagné 2 centimètres.

Qu'il s'agisse de graines volumineuses ou petites, de graines avec ou sans albumen, les mêmes troubles se manifestent.

Œufs. — Les œufs diffèrent beaucoup suivant les Animaux. Nous ne parlons pas de leur morphologie extérieure, sans grand intérêt, mais de leur constitution. Ils comprennent d'abord les œufs simples, puis les œufs composés. Ces derniers nés d'une cellule ovarienne et d'un vitellogène.

Les premiers, au contraire, formés dans l'ovaire aux dépens d'une seule cellule germinative sont les plus nombreux.

Ils renferment trois grandes classes, suivant la répartition de leur protoplasme et de leur deutoplasme.

Nous devons à Balfour une division très simple. A savoir : les œufs alécithes dont le deutoplasme peu abondant se trouve également réparti ; les télolécithes dont le deutoplasme est accumulé au pôle végétatif ; les centrolécithes enfin.

¹ Expériences exécutées en janvier.

dont le nom indique assez la position centrale du deutoplasme.

Le type à vitellus, disposé d'une façon uniforme comprend l'Amphioxus et les Mammifères.

Le type polaire renferme les Poissons, les Reptiles et les Oiseaux, tandis que le type central contient les Arthropodes.

L'impossibilité d'agir assez longtemps sur des femelles de Mammifères nous a interdit toute expérimentation sur le premier groupe.

Quant aux deuxième et troisième, pris en bloc, ils présentent des perturbations nombreuses, dont plusieurs tout à fait analogues à celles des graines au sortir de la centrifugeuse. Dans cet ordre d'idées, nous verrons bientôt qu'une action de deux jours à peu près accélère leur éclosion, tandis qu'une action de quatre, cinq, six, sept jours la retarde de plus en plus. Laissés à tourner, trois à quatre semaines, les œufs périssent. On ne trouve même plus les quelques exceptions signalées chez les Plantes.

Nous reviendrons à la fin de ce chapitre sur nos premiers essais exécutés, voici sept ans, avec des œufs de poule.

Ayant eu en effet la bonne fortune de pouvoir élever quatre générations successives de Vers à soie, nous croyons préférable de commencer cette étude par eux.

Quelques remarques techniques semblent nécessaires d'abord. Les voici :

Vers à soie. — On ne saurait prendre trop de soins pour éviter toute altération étrangère susceptible de se superposer à celles de la force centrifuge.

Les graines primitives doivent être parfaitement sélectionnées, sortir d'une maison sérieuse¹ et porter l'estampille du contrôle officiel.

Jusqu'ici tout est facile. Les difficultés commencent au

¹ Nous avons été très satisfait de la grainerie Laurent, à Bagnols-sur-Cèze (Gard)

moment de conserver dans des conditions normales des graines issues de parents plus ou moins centrifugés. Le mieux nous a toujours paru d'obtenir des pontes au mois d'août pour leur laisser tout le temps de mûrir avant les mauvais jours.

Une fois la maturation terminée, chaque lot doit être enfermé dans des boîtes de carton perforées, dûment cachetées à la cire, étiquetées de manière à éviter toute cause d'erreur.

Les auteurs s'accordent à déclarer que les races univoltines¹ ont besoin de froid. Elles peuvent supporter sans danger jusqu'à 30 degrés au-dessous de zéro. Mais l'hibernation ne devant pas dépasser trois mois, on éprouvera bien des ennuis si les œufs sont ramenés à la température des appartements avant le printemps.

Toutes les fois que nous avons voulu garder quelques graines au laboratoire, elles finirent, par éclore, même dans les sous-sols, avant l'apparition des premières feuilles de mûriers.

Aussi, avons-nous eu recours à la Société Frigorifique². Grâce à l'amabilité de son directeur, il nous fut loisible de conserver les sujets traités, à plus 6 degrés, température préconisée par les graineurs de profession.

Pour obtenir l'éclosion, il faut une température de 15 degrés et l'élever peu à peu, de manière à obtenir 20 degrés le sixième jour. Les graines deviennent alors de plus en plus claires et blanchissent au moment de la naissance des jeunes.

Les procédés sont nombreux pour obtenir la chaleur désirée, depuis les petits sachets portés par les femmes du Midi entre les seins, jusqu'au bouillottes, lampes fumeuses, tout a été essayé par les « païres ». Les castelets des Cévennes, la couveuse Orlandi³ sont les meilleurs.

Personnellement, nous laissons simplement les œufs dans une pièce chaude à l'abri des courants d'air... Ce moyen très

¹ C'est-à-dire annuelles.

² Dont les entrepôts très intéressants sont situés rue Tupin, Lyon.

³ Guerein-Meneville et Robert, *Manuel de l'Education des vers à soie*, Paris; Jules Gal, *Etudes sur le ver à soie* (Nîmes); Laurent de Larbousset, *Cours de Sériciculture pratique*, 1893, 26, rue Florian, Alais.

simple en vaut bien d'autres comme régularité, puisque, suivant l'année, les éclosions eurent lieu vingt à vingt-six jours après la sortie de l'entrepôt frigorifique.

Telles sont les précautions à suivre pour expérimenter sur des œufs robustes.

Il nous reste à signaler notre façon de procéder pour isoler soit des femelles, soit des couples au moment de la ponte. Lors de la première génération, lorsque le nombre des lots n'est pas encore important, la verrerie ordinairement en usage dans un laboratoire suffit. Mais, au fur et à mesure des essais, on s'aperçoit vite de la nécessité d'un matériel spécial.

Nous avons donc complètement abandonné les cloches en verre, les grands entonnoirs renversés¹, pour utiliser d'abord les « protège-viande » grillagés, communs dans tous les bazars. Mais, souvent les Papillons grimpaient contre eux au lieu de pondre sur les papiers blancs disposés en dessous des appareils. Il fallait alors sacrifier les instruments pour conserver les œufs.

Aussi, depuis plusieurs années, employons-nous toujours des sacs à fruits en tissu métallique. Il suffit de les distendre le plus possible, de rabattre les coins inférieurs de manière à obtenir une chambre sphérique. Grâce aux ligatures supérieures, on possède ainsi toute une série de petites cages faciles à étiqueter et à loger.

Nous en avons installé au Bois-d'Oingt² plus de trois cents dans un espace restreint sans avoir jamais eu la plus petite crainte d'erreur.

Les sacs en papier glacé, ne valent rien, car leur opacité ne permet pas de suivre l'évolution des sujets enfermés. Ceux de gaze sont incommodes, parce que c'est à grand'peine qu'on leur

¹ D'autre part, cette verrerie donne des produits très sales. L'animal ne pouvant monter contre l'enceinte reste constamment sur le fond de papier et le souille de ses déjections.

² Petit village du département du Rhône où nous avons plusieurs fois élevé des cocons pendant les vacances universitaires.

donné la forme voulue. Sans cesse les parois s'écrasent et gênent les Papillons.

Les sacs métalliques nous semblent supérieurs à tout et pour tous les usages.

Grâce à eux, nous avons établi une méthode simplifiée pour reconnaître les sexes.

Sans doute, le cocon femelle est plus lourd, plus gros, plus long, moins étranglé que l'autre. Le Papillon mâle est le plus petit, le plus léger, le plus coloré sur les ailes. Ses antennes sont plus grandes. Enfin, il n'a que deux ouvertures terminales (anus et orifice du pénis en dessous), tandis que la femelle en possède trois : un anus, un oviducte en fente verticale et une bourse copulatrice.

Mais les diagnostics sont parfois délicats.

Pour trier les Papillons, il suffit de placer dans une de nos petites cages une femelle vierge, de porter le tout dans une pièce n'ayant pas contenu de Vers. Lorsque l'on éprouve quelque hésitation à fixer le sexe d'un Insecte, on l'approche de la cage. Si c'est un mâle, il battra des ailes. Cette façon de procéder rappelle la baguette magique de Raphaël Dubois¹.

Maintenant que la technique à suivre en général est connue, voyons ce que produit la force centrifuge.

Des œufs normaux centrifugés une heure à 2.600 tours, puis deux jours à 500, donnent entre 7 à 9 pour 100 de naissances parthénogénétiques.

Cette proportion s'accroît, si les œufs centrifugés descendent de producteurs centrifugés eux aussi à l'état d'œufs. Elle atteint alors 10 pour 100. Enfin, elle arrive à 11,3 pour 100 si deux générations d'ascendants ont déjà été traitées.

Non seulement, il y a augmentation des éclosions sans fécondation, mais un grand nombre d'œufs de femelles vierges arrivent à un state très avancé.

¹ *Comptes Rendus A. F. A. S.*, Du rôle de l'olfaction dans l'accouplement chez les insectes (Congrès de Bordeaux, 1895).

Par contre, la force centrifuge appliquée soit aux Larves ou aux Papillons normaux, soit aux Larves et aux Papillons nés d'œufs déjà soumis à la centrifugeuse, ne change en rien les pourcentages de naissances parthénogénétiques.

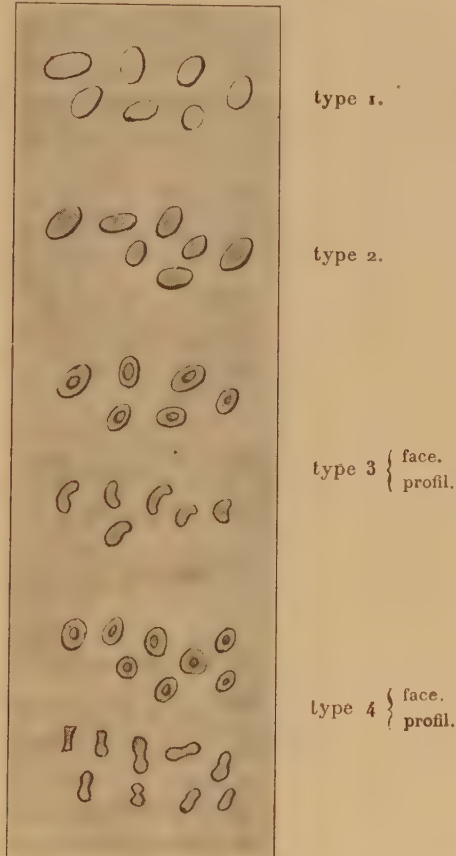


FIG. 28.

L'aspect extérieur des œufs parthénogénétiques permet de les ramener à quatre groupes représentés de face et de profil sur le dessin (28).

Les uns restent jaunes (type 1).

D'autres tournent au gris, d'aspect ovale, ils sont régulièrement biconvexes (type 2).

Ceux-ci possèdent un léger ombilic vus de face; sont réniformes de profil, avec un grand bord bombé extérieurement et un petit bord parallèle concave (type 3).

Ceux-là enfin qui ont le plus évolué, sont franchement ombiliqués de face et biconcaves de profil (type 4).

Les véritables coupes d'œufs étant longues et difficiles, nous avons cherché un moyen de translucidation pour obtenir des

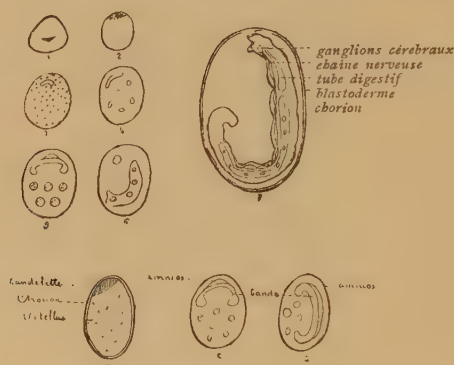


FIG. 29.

coupes optiques et pouvoir examiner ainsi le plus grand nombre de pièces possible.

De tous les corps essayés, le meilleur semble être le salicylate de méthyle¹.

Une immersion de vingt à trente minutes suffit, à condition de secouer légèrement au début les récipients pour chasser les bulles d'air parfois adhérentes au chorion. Mais le maximum de transparence apparaît après une journée.

La figure n° 29 représente la section d'œufs normaux, tandis que les dessins 30-31 montrent quelques types par-

¹ Nous verrons plus loin que toutes les espèces d'Insectes n'ont pas des œufs susceptibles d'être ainsi traités.

thénogénétiques examinés une fois tous les témoins éclos depuis longtemps déjà.

Il suffit de comparer ces figures pour voir que si ces œufs

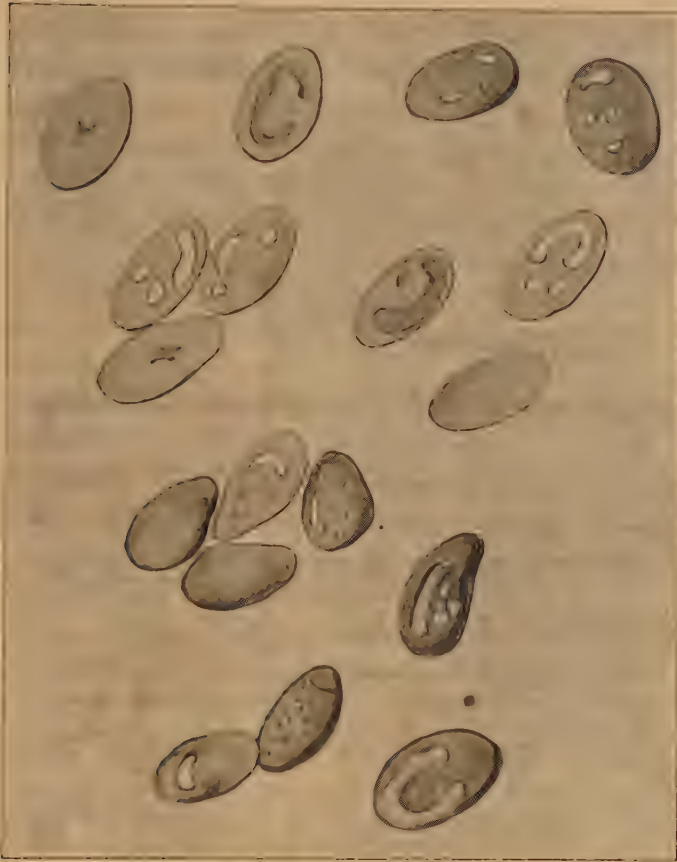


FIG. 30.

ne purent finir leur évolution, ils arrivèrent cependant (certains du moins) à des stades avancés.

Comment expliquer ces phénomènes parthénogénétiques.

Les doctrines émises peuvent se ramener à trois grandes classes : action chimique, action physique et action mécanique.

Voyons donc très brièvement ce qui fut établi pour résoudre le problème de la parthénogénèse. Nous insisterons en particulier sur les explications mécaniques.

Les premières expériences réalisées eurent lieu en 1866. Pour les instituer, Tichomiroff s'adressa au Ver à soie.

On sait que le développement de cet Insecte subit un temps d'arrêt. Après la maturation de l'œuf, la vie devient latente, puis repart au printemps. Les éleveurs ont beaucoup cherché les moyens d'abrégier la période du repos. Si, en effet, on parvenait à produire une évolution continue des œufs pondus



FIG. 31.

au début de juillet, il serait possible d'avoir une seconde récolte avant la chute des feuilles de mûrier ¹. Les *grainiers* obtinrent plusieurs fois quelques résultats en frottant les œufs avec un pinceau.

C'est pourquoi Tichomiroff eut l'idée de secouer des *graines* de *Bombyx mori* dans du drap pour produire la parthénogénèse.

Mais en 1889, Nüsbaum protesta, disant que le pourcentage obtenu par Tichomiroff (6 pour 100) ne dépassait pas celui des œufs virant spontanément.

¹ Il ne faut pas oublier que dans nos pays cet arbre est le seul susceptible d'alimenter les races habituelles. Le salsifis peut y suppléer, mais d'une façon moins parfaite et combien coûteuse.

Tenter d'obtenir deux récoltes de cocons par an n'est point chimérique. D'ailleurs, les Chinois du Nord, avec des races sauvages, font deux cueillettes et les Japonais jusqu'à trois chaque année. Les Italiens sont arrivés, eux aussi, à deux élevages annuels.

Le savant russe, poursuivant ses expériences, utilise alors l'acide sulfurique concentré¹ et montre une relation étroite entre la parthénogénèse et la durée d'action du réactif employé.

Les résultats devenaient intéressants. En effet, après quinze secondes d'exposition à l'acide, 13 pour 100 de *graines* purent éclore sans avoir été fécondées, et 30 pour 100 après quatre-vingt-dix secondes.

En 1907, Kellog reprend cette étude, dont il confirme les conclusions.

Dès 1890, Hertwig avait essayé le secouage comme agent parthénogénétique chez l'Etoile de mer (*Astéris* et *Astropecten*).

En 1901, Mathews eut aussi recours au brassage.

En 1902, Fischer agite mécaniquement des Annélides (*Amphitrites*).

En 1903, Delage applique les mêmes procédés aux œufs d'Oursins.

Ces quelques expériences autorisent diverses hypothèses au sujet de la manière d'agir de la centrifugation.

Puisque le développement de l'œuf commence habituellement après la destruction de la membrane nucléaire, ne pourrait-on admettre, comme Mathews, une déchirure membraneuse capable de remplacer la fécondation ? Pour lui, le secouage rompait l'enveloppe en plusieurs points, *a fortiori* pouvons-nous penser que la force centrifuge la fait éclater².

D'autre part, il semble logique aussi d'attribuer l'accroissement de la parthénogénèse à une action déshydratante de la centrifugation, semblable à celle de l'acide sulfurique dans les essais de Tichomiroff. Une série d'expériences réalisées avec

¹ Nous avons nous-même fait des essais comparatifs entre l'action de la force centrifuge et celle des corps déshydratants.

² Pour plus de détails, cf. Yves Delage, *la Parthénogénèse naturelle et expérimentale* (Bibl. de Philosophie scientifique, Flammarion, Paris).

divers produits susceptibles d'absorber l'eau¹ est toute en faveur de cette manière de voir².

Enfin, les deux actions mécanique et chimique ne se contredisent pas. Elles peuvent fort bien se superposer l'une à l'autre.

Comme pour les graines, la centrifugation, disions-nous plus haut, accélère d'abord le développement des œufs, puis le retarde de plus en plus, jusqu'à le rendre impossible.

C'est grâce aux Vers à soie qu'il nous fut donné de faire cette constatation.

Voici comment :

Nous avons, au mois de mai 1913, mis quatre tubes d'œufs à tourner. Trente-six heures plus tard, nous les plaçons dans une boîte vitrée à côté du lot témoin.

Or, quelle ne fut pas notre surprise de voir le lendemain tous les produits centrifugés éclos, tandis que, à peine, un ver ou deux sortaient des œufs normaux.

Des expériences sont alors instituées et nous apprennent que, jusqu'à cinquante heures environ de rotation à 500 tours,

¹ Cf. Clément, même chapitre, p. 100, et chapitre V : ACTION SUR LES NYMPHES.

² C'est au professeur Raphaël Dubois que revient incontestablement le mérite d'avoir le premier montré le rôle primordial et capital de l'hydratation dans les phénomènes de la fécondation et de la parthénogénèse naturelle ou artificielle, d'abord par ses nombreuses recherches sur la fonction d'hydratation¹ à laquelle Giard essaya de substituer le nom d'anhydrobiose, et bien antérieurement à cet article, dans ses *Leçons de Physiologie générale et comparée* (Masson, Paris, 1898).

Les travaux ultérieurs de Loeb, de Delage, de Bataillon, élève du professeur Dubois, et de beaucoup d'autres expérimentateurs qui se sont occupés du mécanisme physiologique de la fécondation ou de la parthénogénèse naturelle et artificielle, ne purent que confirmer les conclusions de notre maître, à savoir : le phénomène capital, primordial initial est une déshydratation suivie d'une réhydratation très active avec diminution de la tension de dissociation de l'eau et du bioprotéon ou substance vivante. La fécondation serait donc une sorte de reviviscence².

C'est aussi la conclusion exprimée dans un livre récent³, par MM. Albert et Alexandre Mary.

¹ HYDRATATION (Fonction d'), par R. Dubois, *Grand Dictionnaire de Physiologie de Ch. Richet*, Paris, Alcan.

² Raphaël Dubois, Du rôle de l'eau dans la fécondation (*Comptes Rendus de la Société de Biologie*, LVI, p. 476, Paris, 1904).

³ *Principes de Plasmogénie*, Mexico, 1916.

la force centrifuge accélère les éclosions..., puis les retarde de plus en plus, jusqu'à les empêcher complètement si son influence dure plus d'une dizaine de jours.

Chose curieuse, tandis que l'on trouve par exception une plante commençant à pousser timidement dans la centrifugeuse, sur des milliers d'œufs traités, nous n'en trouvâmes jamais aucun d'éclos.

Les grandes vitesses (2.600-2.900 tours), employées pendant trente ou soixante minutes, ne donnent pas ces résultats.

Voici d'ailleurs un tableau (n° 32) assez complexe montrant bien les diverses modalités du développement chez les œufs soumis à la force centrifuge.

Il représente le temps que mirent à naître des vers issus d'ascendants plusieurs fois centrifugés au stade œuf.

Les œufs normaux furent traités pendant vingt-quatre heures avant l'hivernation et vingt-quatre heures après. Les œufs descendants directs de ceux-ci furent centrifugés pendant une journée lors de la ponte, puis deux, trois, dix, douze, vingt, vingt-cinq, vingt-huit, trente-six, quarante-six, cinquante-huit, soixante-trois heures au printemps¹.

Cette façon de procéder tendait à permettre un séjour prolongé dans la centrifugeuse, sans produire peut-être un arrêt complet du développement.

L'examen des courbes montre que le premier jour² ce sont les œufs centrifugés au printemps, vingt-cinq à vingt-huit heures qui éclosent en plus grand nombre.

Le deuxième jour, ce sont ceux de vingt-huit heures ;

Le troisième jour, ceux de trente-six heures ;

Le quatrième jour, ceux de deux et trente-six heures.

Les cinquième et sixième jours, ceux de deux heures.

L'allure générale de ces graphiques semble très nette. Les résultats complexes qu'ils représentent, comparés avec d'autres

¹ Dans tous les cas la vitesse employée fut de 500 tours.

² Nous appelons premier jour celui où eurent lieu les premières éclosions.

*Influence de la durée
de la centrifugation sur l'éclosion.*

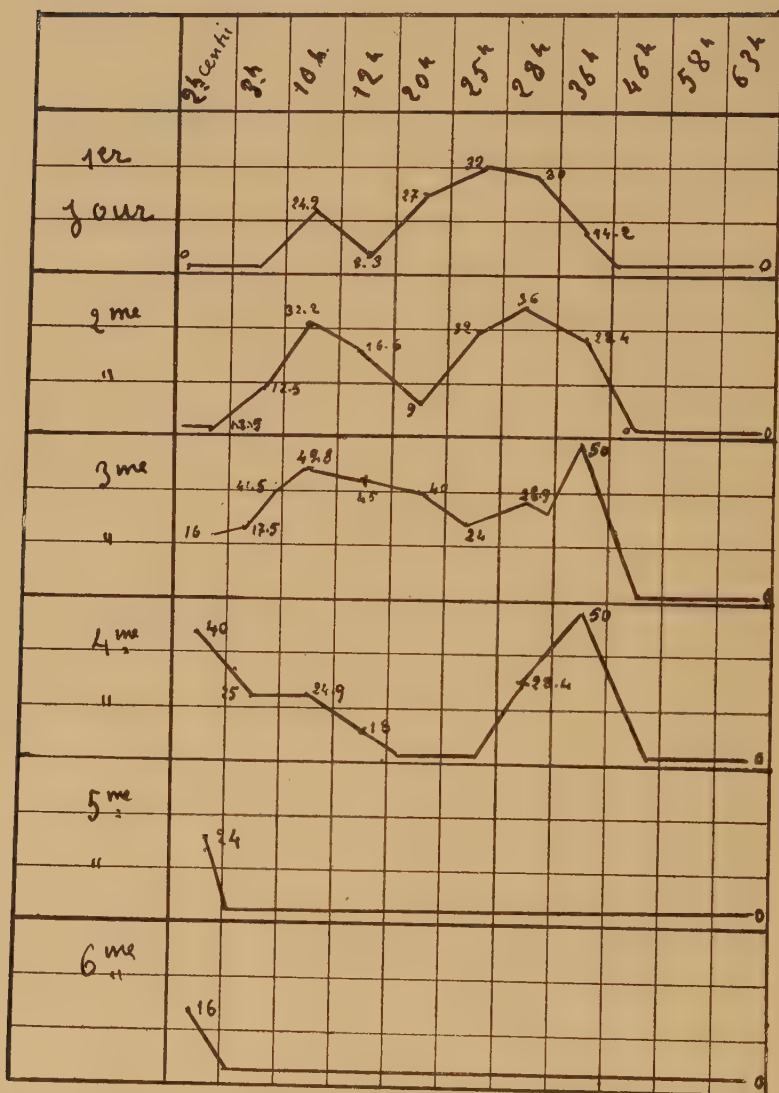


FIG. 32.

moins compliqués permettent d'affirmer que seules les centrifugations de printemps agissent, tandis que celles pratiquées lors de la ponte sont inefficaces.

Quelques remarques semblent nécessaires pour expliquer les chiffres portés sur les courbes.

On pourrait s'étonner, en effet, de voir éclore des fractions d'œuf.

Ces décimales tiennent à ce que, pour faciliter les comparaisons, nous avons ramené les différents lots d'œufs à un chiffre commun d'individus, puis divisé les produits par 10, de façon à éviter des hauteurs trop grandes dans les courbes.

Ces accélérations dans le développement sont très sensibles aussi sur les œufs d'Araignées. Le graphique (n° 33) montre que 115 œufs d'Epeire centrifugés éclosent six jours avant l'apparition des premiers témoins et 172, cinq jours plus tôt.

En quatre nyctémères, 348 petits Arthropodes sont déjà apparus parmi les sujets traités, tandis que, en un laps de temps deux fois plus long, 272 œufs normaux seulement, arrivent à éclore.

Ce tableau (n° 33) relate encore nos premières expériences tendant à établir qu'il existe une certaine relation entre la force centrifuge et les déshydratants¹. Nous avons utilisé le chloroforme et l'éther.

On connaît, en effet (Raphaël Dubois l'a démontré²), que les anesthésiques agissent par déshydratation.

Il est très difficile de savoir si un œuf est trop ou pas assez anesthésié, c'est pourquoi nous avons agi prudemment. Les vapeurs employées contenaient une forte proportion d'air, et elles ne furent jamais utilisées plus d'une demi-heure.

¹ Cf. Clément, chapitre IV, p. 97, et chapitre V : SUR LES NYMPHES.

² Mécanisme de l'action des anesthésiques, in *Revue des sciences pures et appliquées*, II, Paris, 1891; et cf. HYDRATATION (Fonction d'), *Dictionnaire de Richet*, Masson, Paris.

Le graphique (n° 33) montre les œufs anesthésiés comme

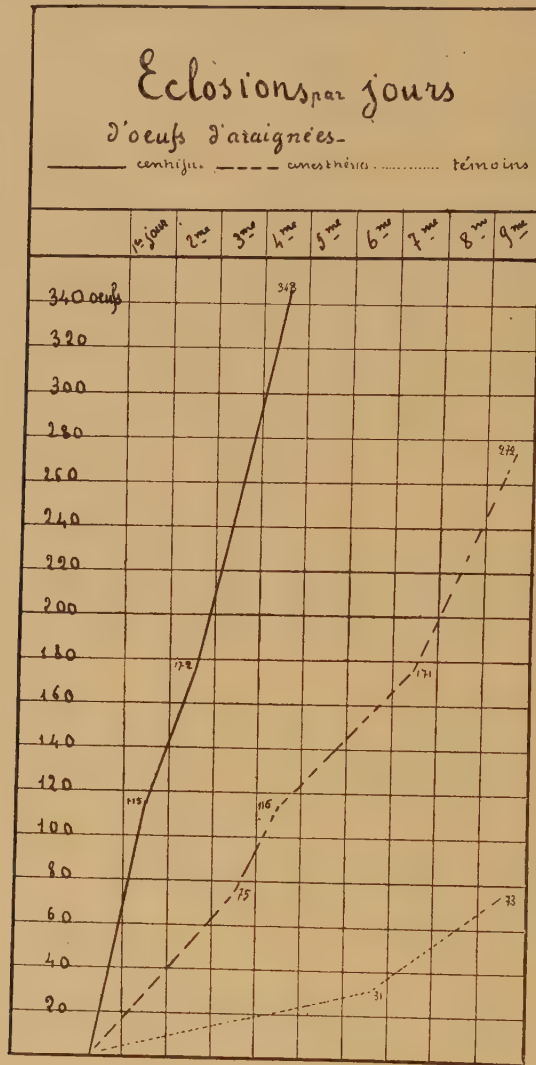


FIG. 33.

intermédiaires dans leur évolution entre les centrifugés, plus précoces, et les normaux plus tardifs.

Ne possédant pas assez de matériaux pour instituer des expériences de durée variable, nous avons centrifugé le lot entier pendant quarante-six heures à 500 tours.

Nous aurions aimé pouvoir obtenir des coupes optiques d'œufs d'Epeire comme celles de Bombyx, mais le salicylate de méthyle ne peut imprégner le chorion. Ce dernier, comme protection contre le froid¹, est enduit d'une substance spéciale qui retient l'air en fines bulles et empêche toute translucidation. Nous avons traité sans résultats cette couche protectrice par divers solvants des corps gras.

Signalons enfin la grande sensibilité de certains œufs aux toxiques. Les quelques individus exposés trois minutes seulement à des vapeurs de chloroforme impur, périrent tous.

Stockard (Chr.), voici quelques années déjà, obtint des monstruosité embryonnaires, en faisant agir des sels de magnésium sur les œufs du *Fundulus heteroclytus*.

Récemment, il utilisa l'alcool et eut des résultats comparables. Les sels magnésiens, dit-il, agissent donc bien en tant qu'anesthésique.

Ces corps doivent être employés au plus tard quinze heures après le début du développement².

C'est donc probablement parce qu'utilisés moins vite, qu'ils ne nous donnèrent aucun résultat.

A leur naissance, les Araignées étaient normales, rien ne semblait sérieusement modifié en elles. Mais nos constatations se bornent à cette première période vitale, car nous n'en avons point élevé. Les remarques faites sur les Vers à soie ont plus de valeur, puisqu'il nous fut loisible de suivre certains sujets pendant toute leur évolution.

Au sortir de l'œuf, chez le Bombyx, tout est naturel, le jeune être apparaît avec une tête brillante noire et un

¹ Le nid entier est d'ailleurs une merveille d'organisation contre le froid.

² Ces travaux sont résumés par M^{lle} Goldsmith dans (2), 1910; les premiers essais sur le magnésium sont rapportés dans (2), t. XIV, p. 110.

corps marron foncé, velu..., sa longueur correspond à celle des témoins, mais assez souvent les individus centrifugés longtemps sont moins larges. Ces différences disparaissent de fort bonne heure, et la taille devient d'environ 7 à 8 millimètres après la première mue, de 13 à 16 après la troisième, et enfin 8 centimètres après la dernière. Ces chiffres correspondent à ceux fournis par Maillot¹.

La tête, le thorax, bien constitués, n'offrent rien de particulier. L'abdomen non plus. Les pattes vraies ou fausses sont normales. La dissection ne montre aucune anomalie.

Cela permettra de considérer certaines perturbations que nous allons bientôt rencontrer comme ayant une origine impossible à déceler morphologiquement.

En utilisant les données acquises soit sur une, soit sur plusieurs générations d'œufs de *Bombyx centrifugés*, nous pouvons établir la courbe n° 34.

Bien entendu, il faut considérer uniquement son allure générale. Les abscisses, aussi bien que les ordonnées, sont approximatives et n'ont rien de précis.

Elles montrent que les œufs centrifugés . . . se développent très vite, en grand nombre; quelques sujets retardataires existent, puis c'est à peine si une ou deux éclosions se produisent encore.

Que les œufs anesthésiés ——— suivent les mêmes mouvements, mais moins rapides, moins amples.

Que les témoins, enfin, — — — à part quelques naissances précoces, vont se développant chaque jour régulièrement, puis présentent enfin des sorties tardives.

Tout ce que nous venons d'observer soit chez le *Bombyx*, soit chez l'*Épeire*, au point de vue accélération ou retard dans les éclosions, nous le retrouvons chez l'*Ascaris megalcephala*.

***Ascaris megalcephala*.** — Fréquent chez le Cheval, ce

¹ *Leçons sur le Ver à soie du mûrier*, Montpellier, 1884.

ver fut toujours très utile aux expérimentateurs, comme nous l'avons vu à propos des spermatozoïdes.

La femelle, plus grosse que le mâle, moins pointue à ses extrémités, renferme un nombre considérable d'ovules.

Peu de questions scientifiques ont été discutées et débat-



FIG. 34.

..... Centrifugés. ——— Anesthésiés. — — — Normaux.

tues avec autant d'acharnement et de passion que celle de la formation des œufs et de leur fécondation.

Les débats célèbres auxquels prirent part Nelson, Meissner, Bischoff, Allen, Thomson, Claparède, Munk et tant d'autres, en font foi.

Les zoologistes-biologistes, divisés en deux écoles, croyaient à la pénétration des spermatozoïdes dans l'œuf ou repoussaient semblable manière de voir.

Van Beneden mit la chose au point. Tous admettent aujourd'hui que les spermatozoïdes accumulés dans la partie supérieure de l'utérus, pénètrent et fécondent les ovules qui descendent constamment au travers de l'organe femelle. Cela permet de recueillir des œufs à tous les stades, comme

on peut, nous le savons rencontrer chez l'*Ascaris* des cellules mâles plus ou moins parfaites.

Si l'on dissèque une femelle, on remarque :

1° Un vagin de faible longueur;

2° Un utérus formé d'une portion terminale très courte (quelques millimètres seulement) et une portion propre à chacun des deux tubes sexuels pouvant atteindre 20 ou 25 centimètres.

La portion dite commune est donc tout à fait insignifiante, et aussi, peut-on presque considérer l'ensemble comme deux utérus plutôt que comme un seul à deux cornes.

Aux extrémités rétrécies des deux utérus, fait suite une partie translucide moniliforme, c'est l'oviducte de Van Beneden. Puis, petit à petit, on arrive à l'ovaire, d'aspect cylindrique et opaque¹.

Si ces organes génitaux, excessivement développés, permettent de récolter une grande variété de produits, il importe, par contre, de faire fort attention lorsqu'on exécute des expériences comparatives, de s'adresser à des parties rigoureusement semblables.

On peut aussi, suivant les cas, procéder comme nous, c'est-à-dire mélanger très intimement les œufs de tel ou tel segment de façon à obtenir des moyennes comparables entre elles. Bien entendu, à l'examen, on rejettera tout œuf blessé.

En plus de leurs nombreux stades, ces œufs offrent plusieurs avantages, notamment ceux :

De donner des coupes optiques, sans préparation aucune, tant ils sont transparents²;

Et de pouvoir se conserver très longtemps.

¹ Cf. Van Beneden, Toute une série de publications dans les *Bulletins de l'Académie Royale des Sciences, des Lettres et Beaux-Arts de Belgique*; *Archives de Biologie*, t. IV, fasc. 2 et 3; *Revue des Questions scientifiques* (octobre 1886) : la Vésicule germinative et les globes polaires de l'*Ascaris*.

² Pour des recherches excessivement délicates on peut encore augmenter la transparence naturelle des pièces en les plaçant dans un mélange de une partie de glycérine pour trois d'alcool absolu; petit à petit ce dernier s'évapore et la glycérine seule reste, pénétrant tous les tissus.

Pour obtenir cette longue conservation, il faut disséquer les organes génitaux et les enlever du corps de la femelle. Bien se garder d'espérer prolonger la vie des animaux en les laissant à 38 degrés dans un segment d'intestin ligaturé aux deux bouts, car, malgré cette température peu élevée, il se crée immédiatement des gaz méphitiques amenant la mort rapide des sujets.

Le mieux, pour s'assurer de fortes longévités, est de détacher l'oviducte et ses annexes, puis de les placer non pas dans de l'eau ou du sérum, mais simplement dans une atmosphère saturée d'humidité.

Pendant la centrifugation, il faut garnir les tubes de coton mouillé, séparé des pièces anatomiques par des rondelles perforées, de manière à éviter tout contact dangereux et augmenter encore la tension de la vapeur dans la chambre à expérience.

L'opération terminée, on peut réaliser un petit dispositif, fort commode pour l'élevage des œufs.

On place pour cela deux petits supports sur le fond d'une cuvette photographique, supports destinés à soutenir une plaque de verre bien propre. Sous cette glace, on met de l'eau jusqu'à la hauteur des dits supports, tandis que l'on étend avec précaution les oviductes sur sa face supérieure. L'ensemble est, bien entendu, bouché par une planchette, puis maintenu à une chaleur convenable¹.

Au fur et à mesure que nous désirions arrêter l'évolution d'un lot, nous le versions dans de l'eau formolée au dixième, en agissant de même à l'égard d'une petite quantité de témoins.

Quel ne fut pas notre étonnement de constater cinq mois plus tard que, malgré l'aldéhyde formique, un bon nombre d'œufs contenaient des embryons biens formés et excessivement mobiles. La planche (n° 35) en montre quelques-uns.

Nous tenions à signaler cette observation curieuse d'ani-

¹ 25 degrés au-dessus de zéro suffisent à assurer une bonne conservation.

maux évoluant dans un milieu aussi nocif que le formol, et sans air pour ainsi dire¹. Cela donne à penser combien il est difficile de débarrasser le tube digestif de ces parasites, et

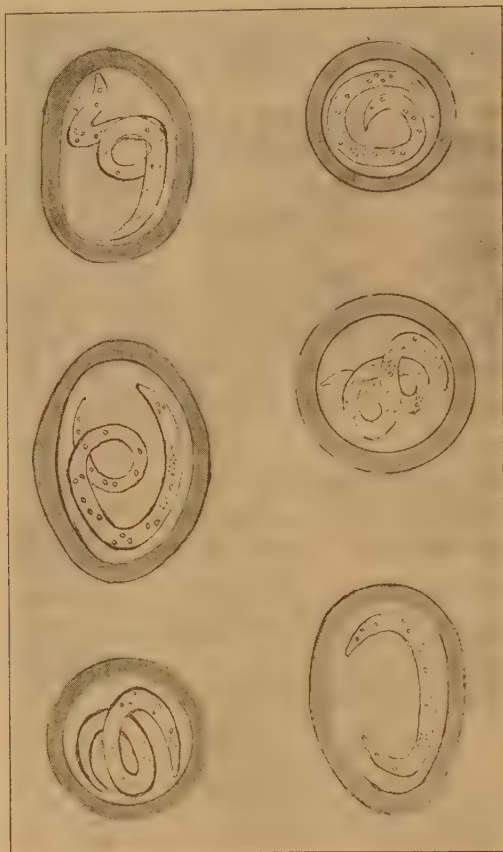


FIG. 35.

combien les réactifs histologiques doivent mal colorer des membranes aussi peu perméables.

Nos examens portèrent sur douze mille œufs. Notre maté-

¹ Tous ces échantillons étaient enfermés dans des tubes de verre bien bouchés, puisque en trois mois l'aldéhyde n'était pas évaporée.

riel se réduisait à un oculaire quadrillé, plus une platine à double vernier.

Malgré un grand désir d'aller vite, les yeux se brouillent par instants et contraignent au repos. Ne peut-on craindre quelques erreurs, les derniers échantillons analysés se trouvant, par suite de ces arrêts, plus vieux que les premiers ?

Voici les précautions prises pour permettre une exactitude complète dans l'examen des 12.000 individus. Il dura trois jours, mais aurait pu être sans inconvénients moins rapide encore.

Il suffit, au lieu de regarder 3.000 œufs d'une variété sans repos, puis 3.000 œufs d'une autre, etc., d'examiner 50 œufs de A, puis 50 de B, 50 de C, 50 de D, en reprenant 50 A, 50 B, etc., de cette façon aucun lot ne peut être sensiblement plus avancé que le premier considéré.

De ces expériences, il résulte que les œufs ayant évolué le plus complètement, sont ceux centrifugés quatre-vingt heures, puisque 943 parvinrent au stade ver, contre 800 traités trente-deux heures et 775 témoins.

La plus longue rotation (cent vingt heures) donna les plus faibles proportions de vers formés, 660 seulement.

Les mêmes observations ont été faites pour les autres stades du développement. Mais ce sont les centrifugations de trente-deux heures qui fournissent le plus de gastrulæ et celles de cent vingt heures le moins.

L'action de la force centrifuge apparaît aussi nettement sur le pourcentage des gastrulæ que sur celui des œufs arrêtés aux premiers temps de leur fécondation.

Tous les chiffres sont résumés en un diagramme (n° 36).

Les quatre courbes (témoins, centrifugés trente-deux heures, centrifugés cinquante-quatre heures, centrifugés cent vingt heures) sont superposées les unes aux autres (planche 37) de façon à permettre une comparaison plus rapide et plus claire.

Qu'il s'agisse du Bombyx, de l'Araignée ou de l'Ascaris, la

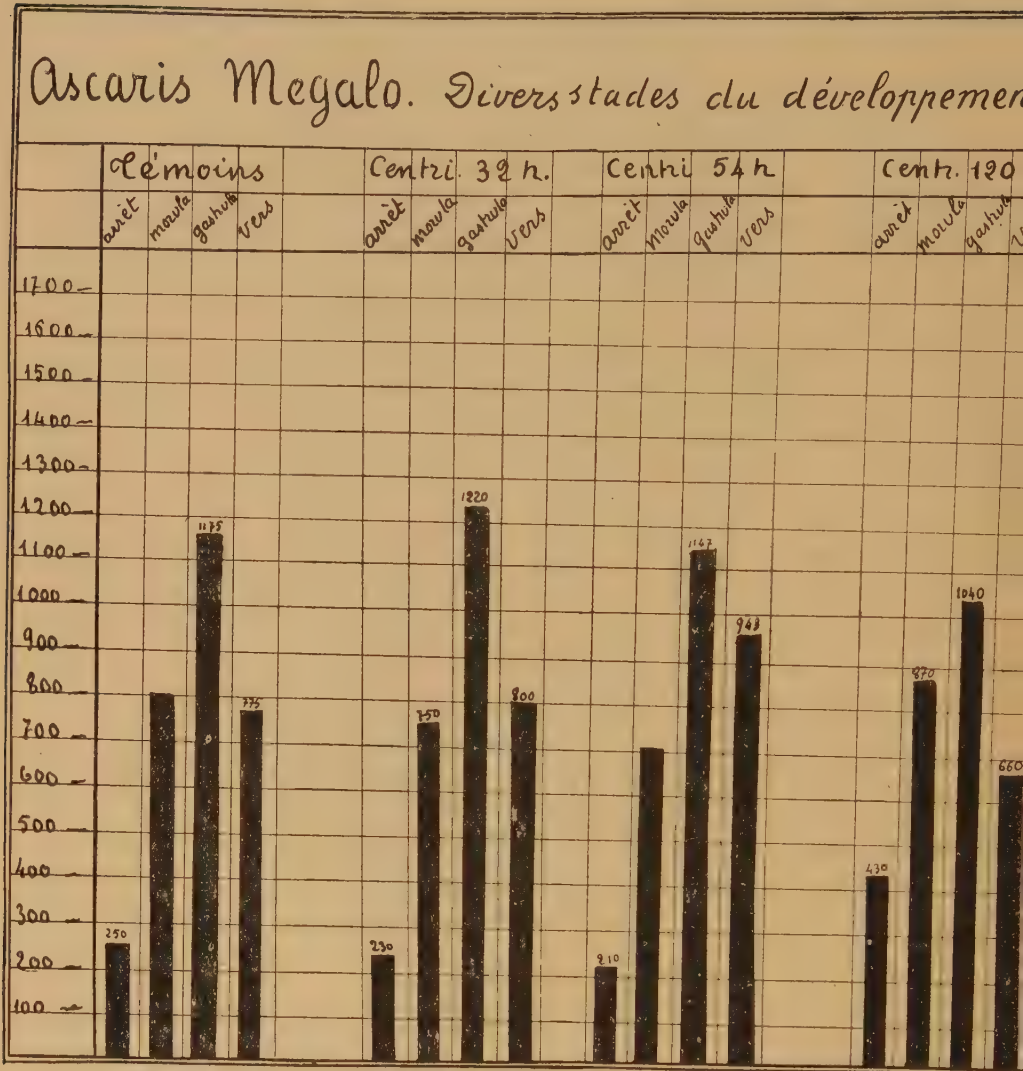


FIG. 36.

force centrifuge intervient donc réellement sur la plus ou moins grande précocité des éclosions.

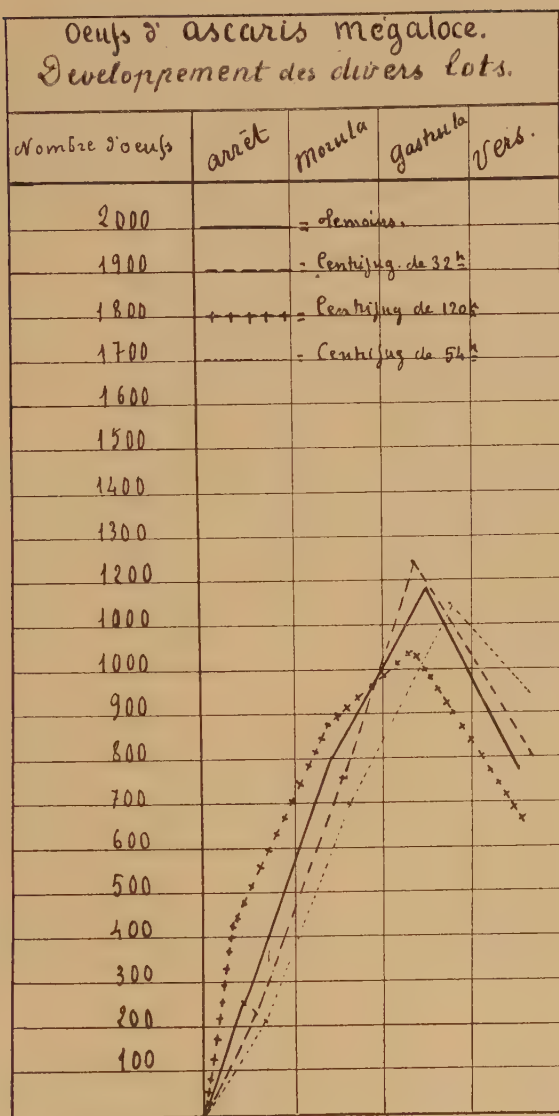


FIG. 37.

*
* *

La centrifugation des œufs de Bombyx pratiquée soit au sortir de la mère, soit au printemps, soit dans les cinq ou six jours précédant l'éclosion fournit des Papillons dont les produits sont normaux comme poids et comme taille. Nous verrons bientôt¹ que la centrifugation appliquée à d'autres stades fait varier ces mêmes produits.

Nous savons déjà que les œufs traités pendant deux générations successives ne présentent pas de modifications plus grandes que ceux soumis à un seul traitement.

Cela est également vrai pour les produits ayant fait un troisième séjour dans la centrifugeuse.

A ce moment, nos animaux succombèrent en très grand nombre. Une faible partie de l'élevage fut seulement sauvée. Les morts ne présentèrent ni pébrine, ni flacherie, ni aucune maladie connue². Fallait-il incriminer les expériences exécutées ? Etaient-elles donc, après avoir été inoffensives si longtemps, susceptibles d'éteindre brusquement l'énergie ancestrale ?

Aussi remercions-nous spécialement l'ami qui voulut bien accepter les quelques œufs recueillis et les élever. Grâce au concours de ses habiles magnanarelles, ces œufs, centrifugés cependant une fois de plus, parvinrent à une évolution normale.

Nous pouvons affirmer ainsi que des Bombyx traités quatre années consécutives au stade œuf ne meurent pas.

*
* *

Oiseaux. — C'est en 1909, au cours d'études sur les troubles de l'équilibre consécutifs à des altérations des canaux

¹ Cf chapitre V : EFFETS SUR LES NYMPHES.

² *Rapports de la Station d'Alais sur les maladies des vers à soie.*

semi-circulaires, que nous avons eu l'idée de soumettre des animaux à la force centrifuge¹.

Le matériel de fortune à notre disposition nous contraignit à cesser momentanément les recherches commencées.

Bientôt, nous avons pu les reprendre, mais en utilisant des œufs, en particulier de poules.

Un Poulet de taille très petite naquit. Ce fut l'origine de notre travail.

Voyons donc comment la centrifugeuse agit sur les œufs de poule.

L'opération est difficile même avec un outillage spécial.

Une vitesse de 250 tours suffit à produire un véritable essorage. Le liquide albumineux s'écoule au travers de tous les pores¹.

Le calage présente bien des écueils. Insuffisant, il permet des secousses, dont la plus légère brise la coquille; trop parfait, il enlève souvent une grande surface de perméabilité et gêne la respiration.

Il faut de plus opérer dans un milieu aussi exempt que possible de germes, car l'appel d'air favorise le passage des spores aux travers des parois. Nous avons ainsi trouvé du *Pénicillium* à l'intérieur d'œufs examinés après trois jours de centrifugation.

Le mieux semble être d'utiliser une vitesse de 100 tours. Elle est incapable de produire une sudation et permet un calage moins sérieux³ avec des fragments de liège de 1 centimètre environ, des fibres de bois et très peu de coton. Nous avons pu éviter tous bris, sans gêner les passages de l'air.

Il importe enfin de placer les appareils dans une enceinte riche en vapeur d'eau.

¹ Cf. *Annales de la Société Linnéenne de Lyon*, t. LX.

² C'est là un bel exemple de phénomène exposé au chapitre III : PASSAGE DE L'EAU A TRAVERS LES MEMBRANES.

³ Les premières expériences furent exécutées à 40 tours environ. L'arbre d'une pompe entraîné par un moteur à vent donnait le mouvement. Cette allure explique comment nous avons pu, sans retarder l'éclosion (23^e jour) centrifuger les œufs dix-neuf journées consécutives.

Des examens pratiqués à différents stades, il résulte les constatations suivantes :

Le jaune, beaucoup plus léger que le blanc, surnage d'abord, puis vient se coller à la membrane tapissant la coquille.

Lorsque la cicatricule se trouve prise au niveau de cette adhérence, elle est, cela se conçoit, non seulement gênée, mais abîmée, puis parfois même détruite. Heureusement que, contrairement à l'opinion la plus générale, l'embryon peut occuper une place très variable. Si, sur des œufs au repos il vient à la partie supérieure de l'albumine, les choses sont bien différentes dans la centrifugeuse.

Au début de l'incubation, c'est-à-dire lorsqu'il est formé de deux feuillets, le disque germinatif d'un œuf de poule montre un croissant plus opaque, plus marqué, puis une gouttière en dessous appelée par Koller : gouttière du croissant. Duval démontra que c'était là le stade gastrula. A ce moment, les œufs traités sont semblables aux normaux.

Un peu plus tard, commencent à apparaître autour de l'aire embryonnaire les sillons marginaux de Hiss, plus rapidement du côté antérieur que du côté postérieur¹ du corps. L'ensemble présente alors l'aspect classique dit en « semelle de soulier ».

A ce moment, la disposition varie beaucoup suivant la place occupée par la cicatrice. Si cette dernière est exactement au pôle central, elle s'élargit d'abord, puis disparaît, étranglée au milieu des adhérences signalées.

Si, au contraire, elle se trouve éloignée de 1 centimètre environ de ce pôle, elle s'allonge.

Cette elongation est peu marquée et n'augmente pas.

L'embryon, légèrement étranglé s'affaisse dans le vitellus

¹ Si l'on pose devant soi un œuf de telle sorte que sa grosse extrémité soit placée à gauche et sa petite à droite, une ligne menée par les deux pôles, divise le disque germinatif en une moitié dirigée vers l'observateur et correspondant à l'extrémité postérieure de l'embryon, et en une moitié dirigée en avant, correspondant à l'extrémité céphalique (Hertwig, *Traité d'Embryologie*, 1890).

sous jacent et s'enveloppe de replis (capuchons céphaliques, caudal et latéraux).

L'évolution continue normale.

Si l'on pèse au huitième jour deux œufs, un normal et un centrifugé, on s'aperçoit, toutes proportions rigoureusement gardées, que le témoin est plus lourd que l'autre. La différence s'accroît peu à peu.

L'eau n'a pas, comme avec de fortes vitesses, mouillé l'extérieur de la coquille. Cependant le vide est plus marqué sur l'œuf traité.

Cette déshydratation, pour faible soit-elle, semble à notre avis susceptible d'expliquer les différences de taille remarquées chez les poussins centrifugés. D'ailleurs, l'autopsie ne montre aucune lésion morphologique, ce qui peut encore confirmer peut-être l'hypothèse de nanisme par manque de matériaux nutritifs?

*
**

De toutes ces expériences, il résulte qu'aussi bien chez les animaux que chez les végétaux, la cellule mâle apparaît très résistante aux effets de la centrifugation.

Par contre, les œufs une fois formés, tout comme les grains, sont très sensibles à la force centrifuge. Ils perdent du poids, sont activés, retardés ou arrêtés dans leur évolution.

A plusieurs reprises déjà, nous avons pu voir combien les relations semblent étroites entre les mouvements de l'eau et les phénomènes observés. Continuant ces recherches, nous étudierons successivement des organismes plus compliqués, plus hydratés, et partant plus sensibles peut-être à la force centrifuge.

CHAPITRE V

EFFETS DE LA FORCE CENTRIFUGE SUR LES NYMPHES

Avant d'examiner les effets de la centrifugation sur les animaux adultes, voyons ceux qu'elle produit sur cet état si curieux de la vie : la période nymphale.

Le *Bombyx mori* est encore un excellent sujet d'études.

Ce dernier met soixante-douze à quatre-vingt-seize heures pour filer son cocon, puis se transforme en chrysalide.

Petit à petit, la chenille se flétrit, les anneaux se rapprochent, le ver se raccourcit, perd ses fausses pattes, ses éperons, et bientôt en deux ou trois jours se dégage de sa dépouille fendue sur le dos.

On trouve alors dans le cocon un objet arrondi à une extrémité, pointu à l'autre ; jaune clair d'abord, puis de plus en plus foncé. C'est la nymphe, intermédiaire entre la chenille et le papillon¹.

Nous avons fait agir sur ces organismes tantôt des forces rapides, mais courtes ; tantôt des forces lentes, mais prolongées.

Tout d'abord, si l'on place des cocons dans une centrifugeuse, marchant à 2.600 tours, en ayant soin de garnir les

¹ Cf. *Encyclopédie Scientifique du Dr Toulouse* (LE VER A SOIE, par Rolet, chez Doin, Paris) ; Gal (Jules), *Etudes sur le Ver à soie*, chez l'auteur, à Nîmes.

tubes avec un peu de laine de verre pour diminuer la portée des contacts trop durs, on voit après quelques minutes sourdre un liquide citrin.

Les cocons ouverts montrent une chrysalide vivant encore, remuant à la plus légère excitation, mais dont le segment postérieur est complètement embouti, rentré dans le corps de



FIG. 38. — Ces dessins ne sont pas à l'échelle.

l'animal (cf., fig. 38) le numéro 1 est une vue de face, le numéro 2, une vue de profil.

Quelle que soit son orientation dans le sens de la longueur, c'est-à-dire que sa tête soit périphérique ou centrale¹, l'invagination se produit toujours du côté postérieur du sujet.

D'autre part, même quand la centrifugation est poussée fort loin (vingt minutes à 2.600 tours), les deux derniers segments seuls sont modifiés. C'est à peine si l'antépénultième apparaît tant soit peu plissé. Cette partie revient d'ailleurs en place assez rapidement.

Il est loisible de conserver ces nymphes sans difficulté, lorsque le liquide extrait ne dépasse pas un quart de centimètre

¹ Côté central, c'est-à-dire celui situé le plus près de l'axe du moteur.

cube, quantité obtenue en moyenne par six ou huit minutes de rotation entre 2.500 et 2.800 tours.

A la dissection, rien de spécial, sauf du côté de l'appareil génital, qui semble flétri. Quant aux œufs, ils sont agglomérés, tassés¹. Nous verrons bientôt comment ils apparaissent une fois translucidés.

Ces nymphes arrivent au stade insecte parfait, mais s'accouplent difficilement. Nous avons observé des mâles et des femelles isolés dans des enceintes spéciales et constaté à plusieurs reprises que le mâle abandonnait la femelle, revenait, la quittait, etc. Les œufs pondus ne virèrent qu'en faible proportion, indice d'une mauvaise fécondation. Ils présentaient dans leur ensemble les types dessinés fig. 38.

Les uns (*a-c*) semblent normaux en coupes optiques, d'autres (*b-d*) sont vides et portent une cicatrice d'éclatement. D'autres enfin sont creux aussi, mais sans traces de lésions.

Le liquide obtenu par centrifugation des cocons est jaune pâle, translucide, sans odeur. Il ne renferme pas de vacuolides, pas de sucres, mais beaucoup d'albumine et d'oxydases, qui, en moins de vingt-quatre heures, le font virer au brun foncé.

Le chiffre de un quart de centimètre cube susceptible d'être extrait sans danger est considérable eu égard au poids de l'animal. Un homme de 80 kilogrammes perdrait dans les mêmes conditions 10 litres de liquide environ.

Avec une déshydratation supérieure, il est très rare que les chrysalides parviennent à poursuivre leur développement. Si elles arrivent au stade papillons, ceux-ci sont rabougris, et ne prennent pas l'aspect d'insectes parfaits typiques.

La tête est forte, le système pileux peu développé, sauf une grosse touffe de poils rétrocéphaliques. Les antennes, assez larges, portent des lames régulières. Les ailes restent pliées. Si on les écarte, elles apparaissent comme très rudimentaires,

¹ Cf. numéros 3 et 4 de la figure 38.

courtes, fortement déchiquetées sur les bords (cf., fig. 39, dessin du bas).

Les réponses aux excitations sont lentes et faibles. Aussi faibles pour ainsi dire que celles des nymphes. Après une vingtaine d'heures l'animal meurt.

Encore faut-il les plus grands soins pour obtenir de sem-



FIG. 39. — Figures réduites de moitié environ.

blables résultats. Le mieux semble de placer côte à côte un petit récipient d'eau et les sujets sous une cloche de verre perforée en un point, pour permettre l'aération. Cette ouverture doit de plus être garnie de coton pour la préserver des spores, sans quoi, en moins d'une semaine, une couche épaisse de mycéliums recouvre la chrysalide.

Tout ce que nous venons d'indiquer concerne les centrifugations rapides et courtes. Examinons maintenant les effets des rotations lentes, mais prolongées.

Il ne sort jamais du cocon le liquide citrin rencontré tout à l'heure. Cependant l'enveloppe est teintée intérieurement.

Pratiqué pendant six jours ou plus à 500 tours, ce traitement n'occasionne pas, comme pour les graines ou les œufs, un

retard dans l'évolution, mais une véritable impossibilité de sortir.

On a dit avec humour que « la chrysalide d'un âge avancé est un papillon emmailloté ». Ce dernier, arrivé à point, se débarrasse de son fourreau. Il s'agit de se frayer un passage jusqu'au dehors. A cet effet, l'insecte sécrète par la bouche quelques gouttes de liquide alcalin amassé dans le jabot, qui décolle les fils de soie. Aidé de ses pattes et de son corselet, il peut alors facilement percer la coque. A sa naissance, le papillon, tout humide, présente des ailes froissées. Jousset, de Bellesme, a démontré que le tissu se dépliait sous l'influence du sang injecté dans les nervures, phénomène dû à une élévation de la pression consécutive à une forte injection d'air dans le tube digestif¹.

Ceci s'applique aux sujets normaux. Quant à ceux centrifugés six jours au moins, ils présentent toutes les phases séparant la chrysalide de l'insecte parfait.

Tantôt l'enveloppe renferme des papillons morts à peine ébauchés, tantôt elle en contient d'autres ayant vainement cherché à dilacerer les fils de leur prison, parfois elle en montre la tête prise dans les parois. faute de pouvoir agrandir avec leur corselet l'orifice commencé, enfin même on rencontre à son intérieur des femelles accompagnées de leur ponte. La fig. 39, représente trois de ces types².

De cela que conclure ? Si non que déshydratées lentement, les nymphes ne doivent plus pouvoir fabriquer le liquide alcalin nécessaire à écarter les fils de soie.

Plus on centrifuge tardivement les cocons, moins il faut de temps pour obtenir les mêmes effets.

Cependant, remarquons-le bien, ces papillons ne sont pas malades. Si on ouvre les cocons pour les libérer, ils sortent,

¹ Cf. Rolet, *loc. cit.*

² 1. Représente le papillon dont la tête seule sort du cocon.

2. Représente la femelle et ses œufs.

3. Représente le papillon à peine ébauché.

s'accouplent, évoluent, semblables aux témoins, mais meurent plus vite qu'eux.

Comme pour d'autres questions déjà, nous avons étudié comparativement des cocons centrifugés avec des cocons déshydratés soit par l'acide sulfurique, soit par les anesthésiques sous une cloche à vide.

Il existe de grandes ressemblances entre ceux-ci et ceux-là.

L'éther et le chloroforme donnent des chrysalides mortes dans leur enveloppe, mais les proportions sont moindres que pour les lots centrifugés. L'acide¹, par contre, produit des actions violentes. Les nymphes se rident et flétrissent. Le plus souvent, elles périssent avant d'être parvenues à l'état parfait. Jamais nous n'avons trouvé ni papillons à moitié sortis, ni œufs pondus dans les cocons.

À propos de l'acide sulfurique, il convient de signaler un phénomène assez curieux :

Ce corps mis sous une cloche en présence de cocons se teinte très rapidement au point de devenir noir foncé.

D'où provient cette réaction ?

Lors d'une présentation à la Société Linnéenne de Lyon, certains incriminèrent des fragments de soie emportés par hasard dans l'acide.

L'explication était alors admissible avec le dispositif employé (fig. 40). Ce dessin montre en effet une capsule renfermant des cocons simplement placés sous cloche au-dessus d'un vase d'acide.

La figure 41 représente notre second procédé, analogue au précédent, mais avec deux toiles métalliques en plus pour fermer capsule et vase.

Malgré ces précautions, le phénomène continuant, nous avons imaginé le petit appareil schématisé sur la figure 42. Il se compose d'une cage de verre percée à sa partie supérieure

¹ Nous l'avons utilisé aussi par le moyen des « cloches à vide ».

reposant sur une dalle par sa base, et d'un bocal pour mettre l'acide sulfurique.

Cage et bocal sont munis de bouchons (*b*) donnant passage à un tube bicoudé (*a*) dont les deux extrémités sont garnies au-

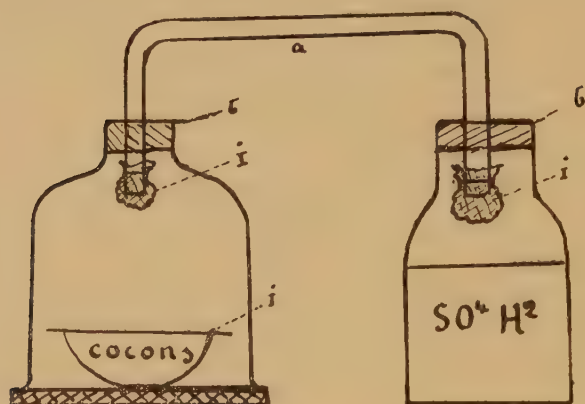
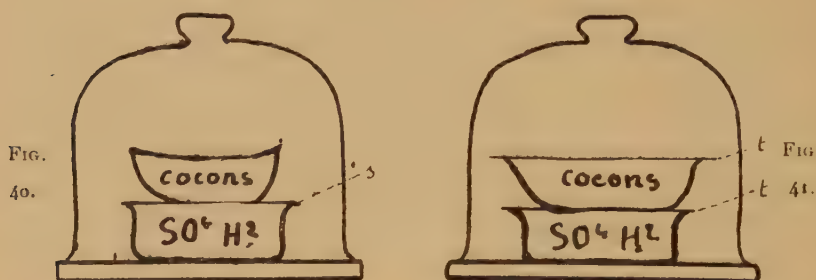


FIG. 42.

dessous, de fermetures de toiles métalliques emplies de laine de verre non tassée; malgré ces précautions, l'acide noircit toujours plus ou moins suivant les cas. Il faut donc admettre l'existence d'un corps volatil susceptible d'être carbonisé. Une présence prolongée dans l'appareil est nécessaire pour

produire ces colorations, présence bien entendu incompatible avec la vie¹.

Lorsqu'on pratique sur les nymphes des centrifugations non plus de six jours, mais de vingt-quatre, trente-six, quarante-huit heures au maximum, on constate une éclosion plus rapide des cocons ainsi traités comparés aux normaux.

Le tableau n° 43 montre les rapports entre les chrysalides naturelles, celles anesthésiées et celles centrifugées vingt-quatre heures à 500 tours.

Ce tableau a été dressé avec les mêmes artifices que les précédents, de manière à pouvoir inscrire des chiffres comparables entre eux.

Les mentions premier, deuxième jour, indiquent les premier et deuxième jours où apparurent des éclosions².

On voit, en examinant ces courbes, que les papillons témoins les plus précoces sortent après vingt-deux jours de chrysalidation, au nombre de huit, tandis que quatre journées plus tôt, les centrifugés apparaissaient déjà au nombre de quinze. Le graphique de ces derniers est plus rapide comme montée, plus « tassé » comme durée, puisqu'il s'étend sur une semaine seulement, au lieu d'une décade comme les normaux.

Les sujets anesthésiés tiennent le milieu entre les uns et les autres, soit comme rapidité, à devenir insectes parfaits, soit comme simultanéité à prendre cet état.

Des expériences exécutées l'année suivante, sur des cocons traités non plus vingt-quatre, mais quarante-huit heures, et seize jours sans arrêt à une vitesse de 500 tours, suscitèrent les mêmes constatations que celles faites au sujet des éléments sexuels ou des cocons centrifugés vingt-quatre heures.

Les types soumis deux journées à la force centrifuge appa-

¹ Avec l'éther et le chloroforme sous forme de vapeurs très diluées à l'air, un séjour d'une demi-heure ne tue pas. L'acide sulfurique sous une cloche entraîne la mort des cocons en quinze minutes.

² Le terme premier correspond ici au dix-huitième jour de chrysalide (en moyenne).

raissent avant les normaux et, à peu de chose près, on peut dire que les témoins commencent à sortir de leur enveloppe quand les centrifugés ont fini de le faire.

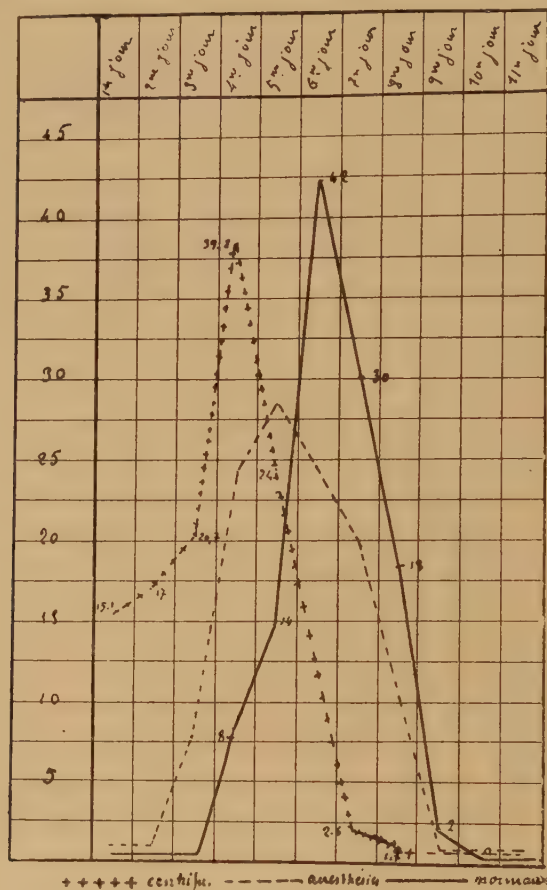


Fig. 43. — Éclosions par jour.

Les types traités deux semaines n'eurent aucune éclosion pendant les quinze jours que dura l'observation des deux lots précédents.

Non seulement la centrifugation agit sur la façon dont les

nymphes deviennent insectes parfaits, mais, en général, elle diminue la longévité des papillons.

Chaque lot soigneusement enfermé dans une cage-sac, nous

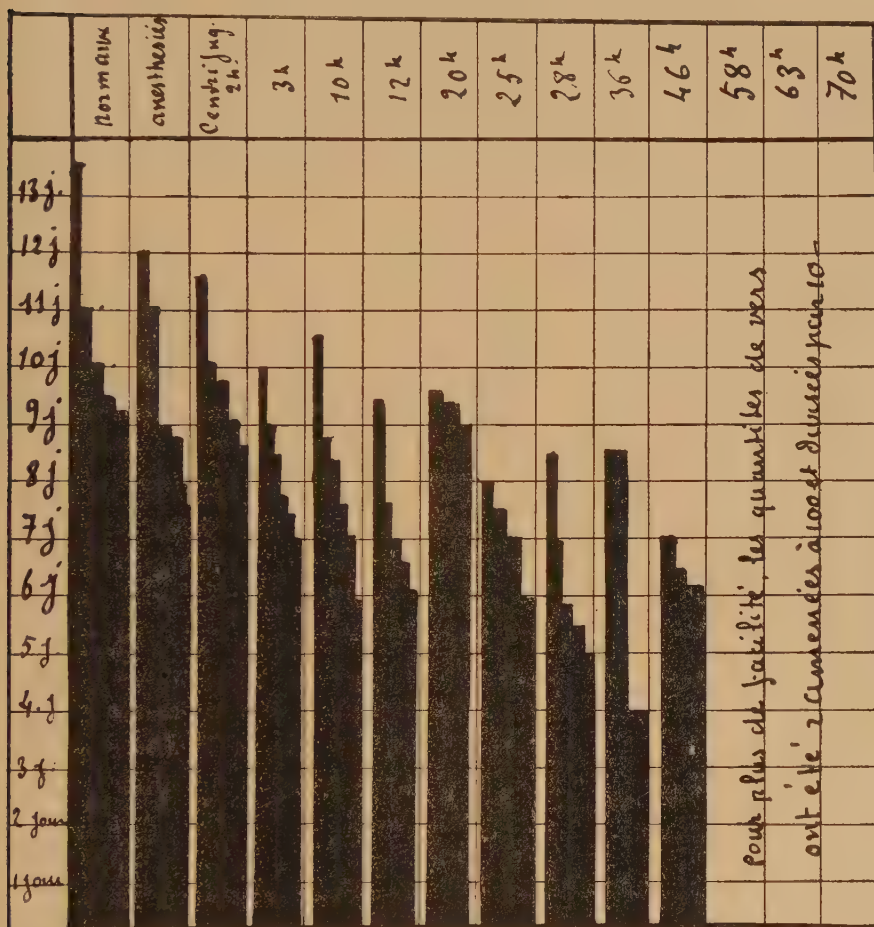


FIG. 44.

avons constaté que 1,3 des témoins vécurent treize jours, 2,2, onze jours; 2,7, dix jours, etc., tandis que les centrifugés ne dépassèrent pas onze journées et demie.

Le graphique n° 44 donne tous ces détails, il montre d'autre

NORMAUX

Grand axe	Petit axe	Grand axe	Petit axe	Grand axe	Petit axe	Grand axe	Petit axe
1,300	925	1,047	890	1,260	900	1,230	899
1,035	859	1,153	845	1,320	935	1,115	910
1,311	813	1,111	826	1,090	900	1,115	925
1,011	812	1,100	917	1,040	830	1,080	812
1,522	845	1,228	928	1,080	844	1,305	813
1,400	825	1,210	845	1,190	925	1,305	840
1,230	857	1,320	855	1,320	850	1,125	824
1,133	833	1,143	815	1,285	830	1,115	931
1,118	828	1,350	850	1,220	826	1,175	856
1,200	826	1,350	833	1,300	918	1,175	732
1,100	826	1,145	833	1,185	900	1,185	788
1,115	831	1,080	925	1,350	865	1,246	867
1,218	853	1,080	925	1,180	816	1,201	867
1,244	876	1,250	890	1,100	843	1,250	867
1,240	865	1,200	795	1,240	845	1,237	919
1,240	867	1,247	825	1,110	822	1,140	921
1,240	867	1,238	813	1,180	883	1,116	845
1,233	855	1,225	911	1,275	920	1,186	830
1,211	824	1,115	929	1,304	795	1,229	833
1,217	840	1,320	854	1,250	795	1,229	910
1,304	880	1,340	928	1,260	910	1,308	785
1,229	910	1,340	843	1,350	832	1,214	843
1,210	910	1,290	850	1,240	885	1,210	915
1,218	832	1,119	865	1,130	860	1,047	788
1,229	810	1,125	880	1,255	860	1,153	839
1,186	810	1,240	885	1,300	860	1,100	910
1,237	823	1,240	895	1,227	915	1,100	788
1,140	873	1,240	917	1,350	925	1,110	920
1,116	932	1,180	925	1,350	786	1,310	843
1,246	926	1,096	925	1,090	843	1,210	843
1,200	844	1,096	845	1,335	845	1,080	780
1,250	843	1,118	830	1,085	820	1,096	888
1,180	845	1,135	836	1,028	910	1,096	916
1,175	837	1,244	833	1,075	910	1,075	916
1,225	835	1,240	910	1,225	835	1,055	796
1,115	826	1,252	890	1,350	815	1,032	868
1,300	825	1,300	940	1,165	835	1,240	868
1,310	910	1,250	870	1,025	785	1,133	842
1,080	910	1,250	853	1,340	933	1,120	906
1,085	833	1,165	826	1,050	826	1,042	798
1,085	835	1,229	857	1,180	815	1,030	903
1,320	820	1,325	833	1,080	910	1,030	901
1,260	835	1,330	899	1,165	910	1,125	736
Total grands axes		Total petits axes		Moyenne			
206,889		147,718		Grand axe . .		51,722,25	
				Petit axe. . . .		36,929,5	

TABLEAU 45.

CENTRIFUGÈS

Grand axe	Petit axe	Grand axe	Petit axe	Grand axe	Petit axe	Grand axe	Petit axe
1,250	1,074	1,209	836	1,340	783	1,218	784
1,310	882	1,325	862	1,190	744	1,146	960
1,290	866	1,320	796	1,290	1,016	1,312	960
1,300	768	1,232	904	1,220	992	1,340	814
1,075	768	1,290	912	1,310	816	1,200	836
1,070	752	1,250	943	1,280	820	1,200	1,008
1,075	823	1,240	766	1,200	746	1,300	796
1,105	823	1,150	766	1,100	1,030	1,288	796
1,236	956	1,285	983	1,250	1,020	1,112	824
1,190	678	1,100	757	1,300	782	1,200	824
1,240	784	1,105	954	1,035	816	1,188	756
1,170	784	1,230	954	1,100	834	1,120	756
1,165	784	1,235	896	1,140	944	1,105	756
1,215	1,026	1,225	982	1,175	782	1,280	980
1,207	952	1,160	757	1,110	899	1,118	980
1,294	955	1,076	955	1,220	828	1,098	930
1,319	896	1,118	984	1,245	828	1,216	1,030
1,300	732	1,115	732	1,270	744	1,224	955
1,276	830	1,234	732	1,250	744	1,100	955
1,219	956	1,230	956	1,296	789	1,090	829
1,208	732	1,330	757	1,350	924	1,176	936
1,227	896	1,310	782	1,190	988	1,180	914
1,106	830	1,215	968	1,220	965	1,092	743
1,130	732	1,115	968	1,250	789	1,092	966
1,325	983	1,245	736	1,240	780	1,122	966
1,110	983	1,241	965	1,180	780	1,026	966
1,123	736	1,060	904	1,166	944	996	744
1,190	998	1,050	904	1,340	736	992	744
1,083	823	1,070	768	1,030	746	1,246	926
1,224	998	1,340	899	989	004	1,110	904
1,228	965	1,350	786	1,160	823	1,316	744
1,105	896	1,027	814	1,030	823	1,300	988
1,120	896	1,163	792	1,050	823	1,276	732
1,240	896	1,100	792	1,086	941	1,276	988
1,230	732	1,100	966	1,330	914	1,300	832
1,207	956	1,210	988	1,225	965	1,320	830
1,211	844	1,218	988	1,330	789	1,276	830
1,213	937	1,310	1,040	1,076	733	1,004	786
1,075	744	1,180	760	1,180	751	1,320	931
1,105	744	1,210	788	1,105	751	1,140	942
1,200	931	1,215	788	1,228	896	1,035	904
1,310	825	1,165	732	1,090	912	1,207	789
1,130	931	1,300	1,000	1,118	843	1,294	785
Total grands axes	Total petits axes	Moyenne		Comparaison			
204,833	145,056	Grand axe, 51.208,25		Grand axe normal, 51.722,25			
		Petit axe, 36.264		— centrif, 51.208,25			
				Petit axe normal, 36.929,5			
				— centrif., 36.264			

TABLEAU 46.

part que la durée de la vie diminue au fur et à mesure qu'augmente la durée du traitement. Enfin, les sujets anesthésiés, c'est-à-dire déshydratés, tinrent le milieu entre les normaux et les autres.

La plupart des papillons, délivrés à temps de leurs cocons qu'ils ne peuvent percer, s'accouplent, pondent, nous le savons.

Mais, que sont leurs œufs ?

Extérieurement, ils n'offrent rien de particulier, ni comme aspect, ni comme couleur. En les mesurant, il nous fut donné d'en rencontrer de normaux, mais aussi de très petits, surtout parmi ceux issus de parents centrifugés plusieurs générations successives au stade chrysalide.

Les chiffres recueillis disant peu de chose pris isolément, nous avons exécuté de nombreuses mensurations que voici (tableaux nos 45, 46), de manière à rendre les différences plus sensibles.

Si l'on additionne la totalité de ces chiffres représentant la longueur des grands et des petits axes, il en résulte une somme¹ de 51.722,25 pour les grands axes et de 36.929,5 pour les petits, tandis que chez les centrifugés, les totaux moins élevés correspondent à 51.208,25 et 36.264.

Les différences, difficilement exprimables pour les unités deviennent ainsi sensibles.

De prime abord, nous avons eu recours, pour effectuer ces mesures, au micromètre de Leitz, si commode et si précis mais, le nombre d'essais trop considérable à exécuter rendait pénible l'utilisation de cet instrument.

Dès lors, négligeant les chiffres déjà trouvés, nous fîmes toutes les numérations avec le *starret micrometer speed indicator*.

Ce qu'il y a de vraiment merveilleux dans le starret, c'est que l'expérimentateur n'a pas à apprécier quoi que ce soit. Il

¹ Il s'agit de sommes moyennes produites par l'addition des axes de plusieurs groupes de vers.

ne craint pas, d'autre part, d'écraser l'objet examiné. En effet, un déclanchement automatique empêche le serrage dès le contact produit. On mesure, par exemple, un cheveu sans l'aplatir. La lecture faite, on peut vingt fois de suite recommencer l'opération et trouver les mêmes chiffres.

Le starret, totalement inconnu des naturalistes, mais en usage dans les fabriques de lentilles, se compose essentielle-

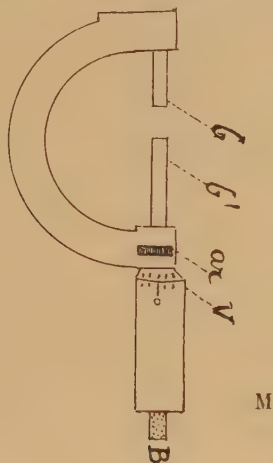


FIG. 47.

ment de deux buttoirs¹, l'un fixe (*b*), l'autre (*b'*) à l'extrémité d'un vernier micromètre (*v*). Le rapprochement des surfaces commencé avec le pas de vis (*M*) se termine avec le bouton à cliquet (*B*) dont la manœuvre de déclanchement empêche toute exagération de serrage. Si, pour une raison ou pour une autre, on veut conserver quelques instants une indication trouvée, le cran d'arrêt (*ar*) permet de le faire (fig. 47).

Il était intéressant, après avoir comparé les dimensions des œufs d'examiner leur poids.

Nul besoin d'étudier des lots considérables, les variations

¹ Bien entendu un système de *rattrapage* permet de vérifier à tout moment l'exactitude du zéro et de la rétablir au besoin.

apparaissent bien plus facilement que pour les mesures de longueur.

OEUFS DE VERS A SOIE			
	VARIÉTÉS d'œufs centrifugés	NOMBRE dans 0,1 décigramme	POIDS d'un œuf
1	Témoins	149	0,00067
2	OEufs centrifugés après hiver.	150	0,00066
3	(2) + larves centrifugées	156	0,00064
<i>Deuxième génération.</i>			
4	(3) centrifugés à ponte	154	0,00064
5	(4) + après hiver	159	0,00062
6	(5) + larves centrifugées	166	0,00060
<i>Troisième génération.</i>			
7	(6) centrifugés à ponte	164	0,00060
8	(7) + centrifugés après hiver.	165	0,00060
9	(8) + larves centrifugées	172	0,00058
Pour les raisons indiquées déjà, pas d'expériences sur les papillons.			

TABEAU 48.

Le tableau¹ n° 48 montre que les œufs de *Bombyx mori*

¹ Quelques mots d'explications sur la manière de lire ce tableau peuvent être nécessaires.

3 (2) + larves centrifugées, signifie que les larves traitées sont issues de (2), c'est-à-dire d'œufs déjà centrifugés après l'hiver.

(3) centrifugés à ponte est une abréviation signifiant que ces œufs sont issus de 3, c'est-à-dire de larves centrifugées, nées elles-mêmes d'œufs soumis à la force centrifuge, etc. Sans cette notation les dernières lignes du résumé deviendraient pour ainsi dire impossibles à écrire.

pèsent en moyenne 0.00067 chacun, et que la centrifugation change peu, souvent même pas du tout, leur poids normal; mais que, par contre, les œufs pondus par des papillons centrifugés au stade nymphe sont fortement modifiés.

L'influence de la centrifugation croît même avec les générations de larves successivement soumises à son action.

Les chrysalides donnent, une fois papillons, des cellules reproductrices moins denses et moins grosses lorsqu'on les a centrifugées.

Quant aux chrysalides, déshydratées dans les mêmes conditions par le chloroforme ou l'éther, elles fournissent des résultats de même ordre, mais moins marqués.

Les cocons issus d'ancêtres centrifugés à la période nymphale de leur existence, pendant plusieurs générations successives, présentent une particularité curieuse : presque tous sont filés non pas en haut des bruyères¹, comme les témoins, mais contre le sol. Ils contiennent, en outre, peu de soie. La planche 49, numéros 5, 5', 6, 6', les montre sous divers angles avec des dimensions moitié plus petites qu'en réalité.

Les cocons provenant de parents et de grands-parents déshydratés au stade chrysalide, sont, eux aussi, inférieurs aux témoins, comme taille, mais d'une façon moins accentuée. La figure 49 (n^{os} 1, 2, 3, 4) représente deux exceptions qu'il nous fut donné de rencontrer.

Ces cocons, reproduits de face et de profil, en demi-grandeur, offraient en plus de leur fort volume des formes extraordinaires.

Nous venons de voir l'influence exercée par la centrifugation des chrysalides sur les œufs et les cocons.

Voyons donc, enfin, ce qu'il advient des papillons nés

¹ Nous avons l'habitude de placer nos vers dans des claies formées de paniers à fleurs en bambous refendus; puis, lors de la montée nous installons tout autour de ces corbeilles des fragments de balais, contre lesquels grimpent fort bien les sujets normaux.

de nymphes centrifugées. Là, encore deux cas sont à distinguer.

Ou bien il s'agit de papillons provenant de nymphes soumises pour la première fois à la force centrifuge, ou bien il



FIG. 49.

s'agit d'insectes dont les ancêtres furent à chaque génération traités à l'état chrysalidaire.

Voici l'exposé du premier cas :

Sur 135 cocons normaux, 55 furent gardés comme témoins, 40 centrifugés quarante-huit heures et 40 seize jours à 500 tours.

Ces divers lots se comportèrent ainsi :

Du 21 août au 4 septembre, il n'y eut pas d'éclosions

parmi les larves soumises à une longue centrifugation, tandis que, durant ce laps de temps, naissaient, au contraire, 40 insectes des cocons témoins et 37 des cocons centrifugés deux jours.

Ces derniers, plus précoces que les témoins, présentaient un faible pourcentage de mâles.

Le tableau n° 50 résume d'ailleurs ces données.

135 cocons normaux, dont : 55 restent comme témoins, 40 sont centrifugés 48 heures, 40 sont centrifugés sans arrêt 16 jours.			
Normaux	48 heures	16 jours	Date éclosion
0	0	0	21 août.
0	3 ♂ 2 ♀	0	22 —
0	5 ♂ 3 ♀	0	23 —
0	4 ♂ 5 ♀	0	24 —
0	7 ♂ 6 ♀	0	25 —
1 ♀	1 ♂ 1 ♀	0	26 —
1 ♀	1 ♂ 2 ♀	0	27 —
3 ♀ 2 ♂	—	0	28 —
2 ♀ 4 ♂	—	0	29 —
1 ♂	—	0	30 —
3 ♂ 2 ♀	—	0	31 —
4 ♂ 5 ♀	—	0	1 ^{er} septembre.
2 ♂ 3 ♀	—	0	2 —
3 ♂ 2 ♀	—	0	3 —
2 ♀	—	0	4 —

TABLEAU 50.

Les chiffres inscrits dans les colonnes
indiquent les éclosions par sexes.

TABLEAU 51.

	Anesthésies	Parthénogé	Normaux	2 heures centrif.	3 heures centrif.	10 heures centrif.	12 heures centrif.	20 heures centrif.	25 heures centrif.	28 heures centrif.	36 heures centrif.	46 heures centrif.	58 heures centrif.	63 heures centrif.	70 heures centrif.	80 heures centrif.
26 août	0	0	0	0	0	2 1 1 2	1 1 1 1	3 1 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	1 2 3 3	1 1 1 1	0	0	0	0
27 —	0	0	0	0	1 1 1 1	1 1 1 1	2 2 2 2	1 1 1 1	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	0	0	0	0	0
28 —	2	0	0	1 1 1 1	1 1 1 1	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	1 1 1 1	0	0	0	0
29 —	3	0	2	1 1 1 1	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	1 1 1 1	0	0	0	0
30 —	3	0	4	1 1 1 1	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	1 1 1 1	0	0	0	0
31 —	2	0	12	1 1 1 1	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	1 1 1 1	0	0	0	0
1 ^{er} septembre.	4	0	7	1 1 1 1	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	1 1 1 1	0	0	0	0
2 —	0	0	3	1 1 1 1	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	1 1 1 1	0	0	0	0
3 —	0	0	1	1 1 1 1	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	1 1 1 1	0	0	0	0
4 —	0	0	0	1 1 1 1	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	2 2 2 2	1 1 1 1	0	0	0	0

Quant aux œufs pondus par ces papillons, ils furent mis à éclore plus tard avec des œufs ordinaires et des œufs de papillons déshydratés à la période larvaire.

COCONS RAMENÉS A CENT		
Normaux	à multiplier par	1,8
Anesthésiés	—	4
Centrifugés 2 heures .	—	9
— 3 — .	—	12,5
— 10 — .	—	8,3
— 12 — .	—	8,3
— 20 — .	—	9
— 25 — .	—	7,6
— 28 — .	—	6,6
— 36 — .	—	14,2
— 46 — .	—	50
— 58 — .	—	0
— 63 — .	—	0
— 70 — .	—	0
— 80 — .	—	0

TABLEAU 52.

Le tableau 51 retrace jour par jour les éclosions par sexe des trois lots.

Les chiffres obtenus n'étant pas susceptibles de rapprochements, il faut, suivant notre méthode, les ramener à 100, en multipliant chaque catégorie par les nombres indiqués tableau n° 52.

Nous obtenons alors ce qui suit :

	TOTAL ramené à 100 ♂	TOTAL ramené à 100 ♀
Anesthésies.	56	44
Normaux	63,2	46,8
2 heures centrifuges	63,4	36,6
3 —	50	50
10 —	49,8	50,2
12 —	58,1	41,5
20 —	9	90
25 —	45,6	53,2
28 —	46,2	52,8
36 —	42,6	56,8
46 —	50	50
58 —	0	0
63 —	0	0
70 —	0	0
80 —	0	0

TABEAU 53.

Il appert de l'examen de ces résultats, qu'à côté de lois connues déjà, la centrifugation accélère la naissance des Bombyx femelles, plus que celle des mâles.

Le deuxième cas considéré, c'est-à-dire celui des insectes dont les ascendants furent plusieurs générations de suite centrifugés en tant que larves, se caractérise par de fortes variations sexuelles indiquées sur le graphique 54.

Ce graphique montre aussi par comparaison le pourcentage des mâles et des femelles chez les papillons nés de parents déshydratés à la période nymphale.

Il résulte donc de nos expériences que la force centrifuge

exerce sur les chrysalides une action comparable à celle des déshydratants anesthésiques ;

Qu'elle permet d'extraire une notable quantité de liquide des chrysalides ;

Qu'elle accélère leur développement et abrège l'existence des papillons ;

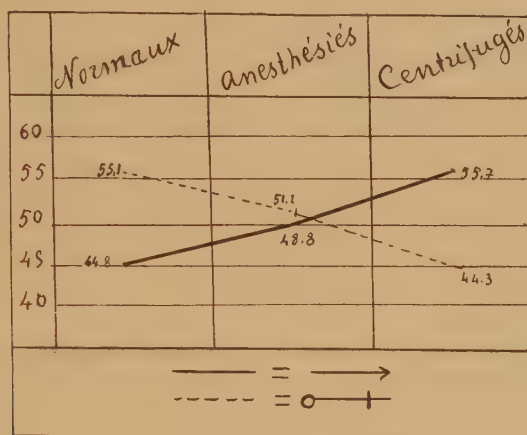


FIG. 54.
Les traits pleins représentent les mâles,
les pointillés les femelles.

Que, répétée pendant plusieurs générations, elle diminue la taille des œufs, des cocons et change le pourcentage des sexes.

■
* *

Depuis la cellule, les actions de la force centrifuge se compliquent de plus en plus à mesure que nous montons dans la série.

Certaines de ces actions ont déjà été rencontrées, d'autres apparaissent progressivement.

Voyons donc si les animaux adultes peuvent supporter les centrifugations et comment elles les modifient.

CHAPITRE VI

EFFETS DE LA FORCE CENTRIFUGE SUR LES ANIMAUX ADULTES

Pour plus de clarté, nous étudierons successivement quelques types bien définis en allant du simple au composé.

Parmi les êtres unicellulaires, certains présentent déjà une complexité structurale remarquable. Tels les Infusoires, par exemple.

Ceux-ci, malgré une différenciation physiologique très accentuée, peuvent être soumis une demi-heure et plus à de grandes vitesses rotatoires sans inconvénient aucun.

Infusoires. — Nos essais portèrent principalement sur des *Paramécies vertes* et des *Vorticelles*.

Les premières sont très intéressantes à étudier, vu leur taille relativement grande et la facilité que l'on a pour distinguer les points essentiels de leur organisation.

Des échantillons centrifugés à près de 3.000 tours ne sont ni détruits, ni même abîmés après plusieurs périodes de trente minutes chacune.

La face ventrale et la face dorsale apparaissent aussi flexibles que normalement. On voit l'animal onduler pour éviter un

obstacle. Son allure n'est en rien modifiée, et il continue à progresser, la grosse extrémité en avant.

Le jeu des vacuoles contractiles se produit aussi régulièrement que sur les témoins. Les systoles ont conservé toute leur vigueur.

Les cils, considérés comme des prolongements du cortex, ne sont pas plus atteints que lui.

Leur mouvement est si rapide qu'on ne l'aperçoit pas; ils semblent ne pas exister. Mais, l'animal mort, ces organes deviennent très évidents et, après coloration, leur ensemble apparaît comme un revêtement épais de cheveux fins et soyeux. La centrifugation ne les modifie en rien.

Les deux couches protoplasmiques demeurent distinctes.

L'externe, assez dense, ne présente aucune lésion. L'interne, que certains nomment « moelle »¹, malgré une grande fluidité, reste bien homogène. Les particules alimentaires continuent à se mouvoir dans son épaisseur. C'est là une chose curieuse, contraire à ce que nous avons signalé pour les cellules végétales d'Oignon, d'Elodea et de Spirogyre².

Cela résulte-t-il d'une stabilité plus grande de la Paramécie? Non, puisque récemment tués, ces infusoires tendent à se comporter comme les végétaux.

La différence prouverait plutôt que, malgré la force centrifuge, ces animaux se meuvent. Leur cellule, prenant des positions sans cesse différentes, se trouve orientée en tous sens et son contenu ne peut être entraîné contre une de ces parois.

Pour avoir quelques prix, les expériences doivent porter souvent sur de nombreux individus.

Nous n'avons pas eu personnellement l'occasion d'employer les procédés ordinairement utilisés pour cultiver les infusoires³

¹ Les auteurs anglais en général. Cf. spécialement *Leçons de Biologie élémentaire*, par T. Jeffery, traduction Marie, chez Masson, Paris.

² Cf. chapitre III : LA CELLULE.

³ Cf. *Technique microscopique*, Böhm et Opfel, 5^e édition (traduction de Rouville, chez Vigot, Paris).

par suite de la découverte de volumineux amas de Paramécies vertes, etc¹.

Les Vorticelles, traitées comme les Paramécies, se conduisent de la même manière.

Les colonies apparaissent simplement un peu tassées. Elles arrivent à former un véritable tissu de cellules polyédriques, les pédicelles remuent normalement. C'est à peine si quelques-uns sont arrachés. Bientôt, d'ailleurs, après une courte période de repos, les individus s'isolent, doués d'une forte motilité.

Presque toujours fixée à la façon d'une plante par l'extrémité de sa tige, la Vorticelle est d'un examen facile. On voit nettement une « cuticule », une « écorce » et une portion « médullaire » avec une grande vacuole centrale².

Cette structure est à peine modifiée par les rotations les plus rapides. A côté d'individus absolument normaux apparaissent, de-ci, de-là, quelques types à protoplasme légèrement condensé. Mais jamais le bioprotéon n'est entraîné comme chez les Algues.

Puisque la colonie se resserre sous l'action de la force centrifuge, on ne peut admettre que son mouvement l'empêche de se comporter à l'instar des végétaux. Ne changeant pas d'orientation, il faut reconnaître une résistance spéciale aux tissus dont elle est formée.

La comparaison des Paramécies avec les Vorticelles montre donc déjà deux causes susceptibles d'empêcher le tassement du contenu cellulaire. A savoir : d'une part, la motilité d'un organisme; de l'autre, sa stabilité spéciale.

Ces deux catégories d'infusoires soumises non plus à des vitesses de 2.500 tours, mais à des centrifugations lentes³ pendant cinq jours, ne sont aucunement modifiées. Les Vorticelles ne présentent même plus le tassement signalé tout à l'heure.

¹ Ces infusoires, aussi nombreux et bien sélectionnés que s'ils étaient issus de cultures artificielles, provenaient de Sainte-Foy-lès-Lyon. Ils nous furent apportés par notre excellent maître M. Couvreur. Nous sommes heureux de le remercier une fois encore.

² Cf. T. Jeffery Parker, *loc. cit.*

³ 500 tours à la minute.

Ces derniers animacules abondent dans toutes les mares. Il est difficile d'examiner l'eau d'un étang sans en découvrir. Bien plus, dans un cristalliseur rempli d'herbes ou d'algues extraites d'un bassin stagnant, on voit bientôt apparaître à la surface du liquide, lorsque les conditions sont favorables, des petites taches blanchâtres, ce sont des colonies de Vorticelles. L'expérimentation sur ces animalcules devient ainsi des plus commodes.

Remontant dans la série animale, nous avons centrifugé après les Infusoires quelques Vers.

Vers. — Des Rhabdocèles d'abord, types les plus petits et les plus simples parmi les Plathelminthes. Il est aisé de se procurer le *Convoluta roscoffensis*. C'est pourquoi il nous sert dans nos recherches.

Quelle que soit la vitesse employée, on ne remarque aucune modification dans ce Turbellarié. Sa structure externe ou interne ne varie point.

Le *Vortex viridis*, du même ordre lui aussi, reste intact au sortir de la centrifugeuse entraînée aux allures les plus différentes. Les leucites pigmentés¹ et les œufs dont ces animalcules sont souvent garnis conservent leur position naturelle.

Les Lombrics, mis à centrifuger à petite vitesse² sur de la terre humide, n'éprouvent aucune gêne et parviennent même à s'y enfoncer comme ils le feraient à l'état de repos. Par contre, à 2.500 tours, ce ver résiste mal; si on le place dans les conditions voulues d'hydratation, il perd cependant du liquide et éprouve quelque paresse au sortir de l'appareil. Très rapidement d'ailleurs, les mouvements redeviennent normaux. Les organes ne sont point détruits. La gêne du début ne comporte aucune systématisation spéciale. C'est une torpeur généralisée.

Insectes. — Plusieurs variétés d'insectes furent soumis à la force centrifuge.

¹ Cf. Couvreur, *Société Linnéenne de Lyon*, t. XLII, 1915, p. 19-24.

² 500 tours.

Qu'il s'agisse de Mouches, de Coccinelles, de Moustiques ou de Papillons, comme le Bombyx, les rotations lentes ne donnent aucun résultat.

A 2.500 tours, la femelle du Bombyx pond plus vite et en moins de temps que les témoins. Le mâle éjacule. Ni l'un, ni l'autre ne rendent du liquide comme les chrysalides, sauf si, pris au sortir du cocon, ils ne sont pas encore vidés.

Mais, ce sont là des actions purement mécaniques, comparables aux phénomènes obtenus lorsqu'on presse le ventre d'un poisson, pour réaliser la fécondation artificielle.

Le Hanneton n'éprouve nul malaise d'un semblable traitement, même à près de 3.000 tours. Il sort intact de la machine. Sa marche est naturelle, ni accélérée, ni ralentie. Sa stabilité est parfaite. Les antennes restent droites et fort mobiles.

Poursuivant nos essais comparatifs entre la force centrifuge et la déshydratation, nous soumîmes quelques Papillons de vers à soie aux vapeurs d'éther jusqu'à ce qu'ils fussent manifestement endormis. Les mâles n'éjaculèrent jamais, tandis que deux femelles expulsèrent cependant leurs œufs¹.

Mollusques. — Les *Mytilus edulis* et les *Venus verrucosa* servirent à expérimenter sur les Mollusques. La seule raison de ce choix fut la facilité de faire entrer les coquilles dans les tubes des centrifugeuses.

Aucune réaction n'apparut, sauf une défense énergique de l'animal. Même avec de petites vitesses, les valves restèrent closes². Une fois sorties de l'appareil, Praires et Moules s'ouvrirent comme leurs congénères. Au moindre contact étranger, vite les animaux se refermaient.

Poissons. — Avec les Poissons, surgissent des troubles sérieux. Ces perturbations vont d'ailleurs crescendo plus on utilise des êtres perfectionnés.

¹ Deux femelles sur trente-quatre examinées.

² Cependant au-dessous de 200 tours, quelques sujets entrebaillèrent leurs coquilles.

De petits Vairons centrifugés cinq minutes à 2.600 tours ne peuvent nager. Ils flottent à la surface d'un aquarium, couchés sur le flanc, ou même le ventre presque en l'air. Orientés¹ dans un sens ou dans l'autre, ils présentent toujours ces mêmes accidents excessivement fugaces. Un quart d'heure de repos suffit à les remettre en parfait état².

Batraciens. — A partir des Grenouilles, nous analyserons plus en détail les effets observés, ces animaux se prêtant bien aux recherches minutieuses.

Jusqu'à ces Batraciens, la situation des sujets dans la centrifugeuse fut sans importance. Maintenant elle devient capitale.

¹ Nous allons bientôt voir l'influence de l'orientation.

² Les accidents légers constatés chez les poissons font songer à l'*hyperhydratation*.

Quand on augmente artificiellement l'hydratation, on peut aussi produire des effets analogues à ceux que détermine la déshydratation.

En 1883, Certes et Regnard ont montré que, sous l'influence de très hautes pressions dans l'eau (jusqu'à 600 ou 700 atmosphères), de nombreux animaux aquatiques tombaient dans une sorte de vie latente, sans que l'on sut pourquoi. Au début de ces expériences, P. Regnard avait remarqué que les pattes de grenouilles comprimées dans l'eau à 600 ou 700 atmosphères, devenaient raides. R. Dubois démontra alors que cet effet est dû à la pénétration de l'eau dans les cellules, à l'*hyperhydratation* du bioprotéon, de la façon suivante : 1° les muscles devenus raides augmentent de poids; 2° ils retrouvent leur élasticité après un temps suffisant de séjour dans un appareil à dessiccation, ou bien par immersion dans des substances déshydratantes, comme l'alcool étendu d'eau à 10 pour 100; 3° en enfermant les grenouilles avant la compression, dans un sac de caoutchouc imperméable, elles ne deviennent pas rigides. Au moment de la décompression, l'eau introduite de force dans le bioprotéon quitte celui-ci, et vient s'accumuler entre le sarcolemme ou le névrilemme et la partie protoplasmique. On avait objecté à R. Dubois que le bioprotéon, n'étant, pour ainsi dire, que de l'eau, ne pouvait pas être pénétré par de l'eau; l'expérience a prouvé le contraire et la connaissance que l'on possède aujourd'hui de la constitution des colloïdes permet d'expliquer cette *hyperhydratation* d'une manière rationnelle. D'ailleurs, il n'est pas nécessaire d'avoir recours à de hautes pressions pour produire l'hydratation des tissus et des organismes; l'eau pure est un poison du muscle, du nerf, de l'organisme même. La chaleur, comme la pression (ce qui se comprend, car elles agissent de la même manière), facilite l'*hyperhydratation*, jusqu'à une certaine limite pourtant; on peut le prouver en faisant dans les artères des muscles des injections d'eau à des températures croissantes. Les contractions deviennent d'abord plus énergiques, puis bientôt survient la rigidité musculaire; ce n'est pas la température du liquide qui agit, mais la surhydratation qui augmente avec elle. (Cf. R. Dubois, article *HYDRATATION* (Fonction d'), *Dictionnaire de Physiologie de Richet*, t. VIII.)

Ainsi, lorsque la centrifugation n'excède pas six heures à 500 tours, ou vingt minutes à 1.900, les Grenouilles à tête centrale sont bien plus malades que celles à tête périphérique¹.

Au sortir de l'appareil, les deux types d'animaux sont affaissés. Ils restent immobiles. Mais bientôt ceux à tête périphérique reviennent à la vie normale, réagissent au plus léger attouchement, gardent leurs pattes en position naturelle, nagent, tandis que les autres restent complètement insensibles aux excitations. On peut placer leurs membres de la plus extravagante façon sans qu'ils les remuent. Mis sur le dos, ils y demeurent. Dans l'eau, ils prennent une station presque verticale, comme leurs congénères curarisés. Les mouvements du plancher buccal restent seuls apparents.

Les cœurs normaux étudiés présentent très exactement neuf contractions en cinq secondes d'une amplitude à peu près constante.

Ceux des Grenouilles à tête périphérique donnent des tracés deux fois plus grands, mais ne battent que cinq fois et quart dans le même temps.

Ceux des animaux à tête centrale, plus lents encore, correspondent au contraire comme amplitude à peu près à la normale.

Les faits sont d'ailleurs très visibles sur les tracés n^{os} 55, 56, 57, 58².

Au sortir de l'appareil, les Grenouilles à tête orientée périphériquement présentent en outre les mouvements giratoires de sens inverse au mouvement de la centrifugeuse. Ces manifestations, de courte durée, n'ont pas lieu avec les grandes vitesses. Notons que l'animal enfermé dans un tube opaque ne peut avoir la plus petite conscience du monde extérieur et tourne sans en rien apercevoir.

¹ Les sujets furent tous centrifugés dans des paniers de tôle perforée, permettant aux échanges respiratoires de s'effectuer sans encombre.

² 55 et 56, cœurs normaux; 57, tête périphérique; 58, tête centrale. Ces tracés ont été accentués pour les besoins de l'impression.

Les Grenouilles orientées d'une façon diamétralement opposée, ne remuant pas de longtemps au sortir de la centrifugeuse, on ne peut les comparer aux précédentes, pour ce qui est des mouvements giratoires.

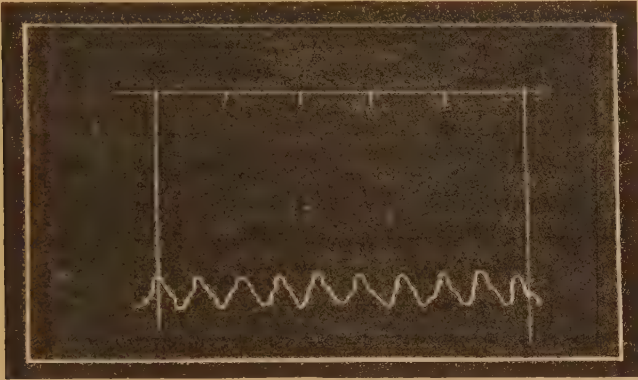


FIG. 55.

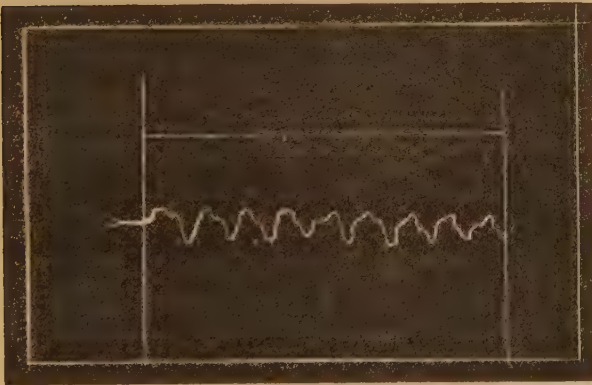


FIG. 56.

Signalons enfin que, laissés libres de se disposer à leur guise dans l'appareil, ces animaux se placent l'extrémité antérieure dans le sens du mouvement, avec le dos tourné vers l'axe et le ventre vers l'extérieur.

Conjointement à ces troubles, il existe chez la Grenouille un

certain nombre de lésions, souvent communes aux diverses positions occupées par l'animal.

Les téguments sont rouges du côté périphérique. Leur colo-

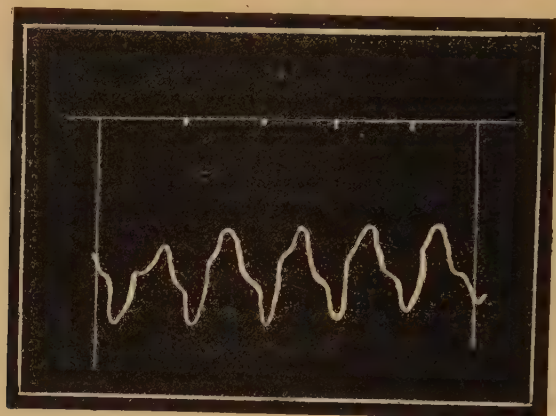


FIG. 57.

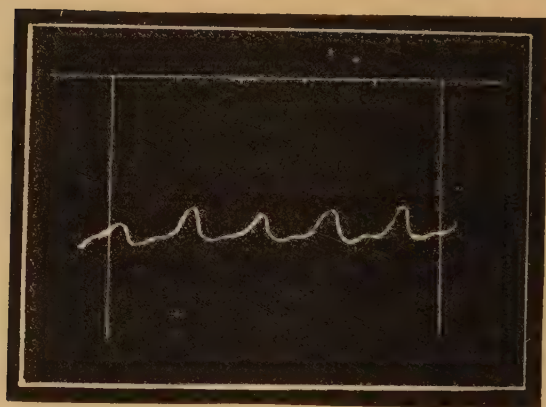


FIG. 58.

ration ne tient pas à des hémorragies. Ni les hématies, ni même de l'hémoglobine¹ n'ont traversé les parois des vaisseaux.

Ces taches, d'un aspect rouge orangé par suite de la pigmen-

¹ Au chapitre II, il a été démontré que les choses se passent différemment, quand on opère sur des segments de veines.

tation des sujets, sont mal limitées. Tantôt discrètes, tantôt confluentes, elles vont s'estompant sur les bords. Intenses parfois, par exemple en cas de localisation sur la langue, ces placards proviennent uniquement d'une grosse dilatation des capillaires.

L'examen des membranes interdigitales montre une circulation paresseuse, tandis que la numération des globules indique une grosse élévation numérique de ceux-ci dans le train le plus soumis à la force centrifuge.

L'autre extrémité, pour être moins riche en hématies, en renferme cependant plus qu'à l'état normal.

Nous pouvons, par conséquent, conclure à une concentration sanguine, puis à une stase.

La méthode des numérations globulaires est vraiment trop connue pour qu'il soit nécessaire de la décrire. Disons simplement qu'avec l'appareil de Malassez nous avons relevé en plus de la normale 86.000 globules rouges du côté périphérique et 30.000 du côté central¹.

Comme complément, l'hémochromométrie fut pratiquée par le procédé du Dr Sahli, peu connu en France. Nous le résumerons donc rapidement².

Il consiste à mélanger une certaine quantité de sang avec une dose dix fois plus forte d'acide chlorhydrique convenablement diluée, en vertu de laquelle cet ensemble devient brun par formation de chlorhydrate d'hématine. Ce mélange est dilué avec de l'eau dans un petit tube gradué jusqu'à ce que la liqueur examinée par transparence prenne la nuance d'une solution type (standartlösung des Allemands). La quantité d'eau nécessaire pour établir l'équivalence des couleurs indique la teneur du sang en matière colorante.

¹ Les prises de sang furent faites au niveau de l'épaule d'une part et du mollet de l'autre, de manière à relever les plus grandes différences possibles entre les deux bipèdes.

² Cf. professeur Sahli de Berne, Congrès de médecine interne, 1902 (*Correspondenzblatt für Schweizer Ärzte*, 1902). Constructeurs Büchi et fils, opticiens à Berne.

Cette méthode a, sur les autres employées jusqu'ici pour déterminer l'hémoglobine, ainsi que sur les appareils de Gower et de Fleischel-Miescher, le grand avantage que la comparaison des couleurs se fait avec des substances absolument identiques au point de vue chimique et de la coloration. On peut arriver ainsi à une parfaite exactitude grâce, à l'extrême sensibilité de l'œil à l'égard des teintes à apprécier.

Ne voulant pas décrire l'appareil, nous dirons simplement que la façon d'opérer est celle usitée pour l'hémoglobinomètre de Gower. La supériorité de la méthode Sahli passe pour incontestable, vu l'inaltérabilité du liquide étalon.

Nous tenions à signaler ce *modus faciendi*, car il doit rendre des services à « Lyon la brumeuse » puisque les observations peuvent être réalisées sans inconvénient à la lumière artificielle comme à celle du jour.

Nous avons trouvé du côté périphérique un accroissement d'hémoglobine supérieur de 12 pour 100 à la normale et de 7,5 pour 100 du côté central.

L'hypothèse de concentration sanguine fut encore vérifiée par le viscosimètre¹. Sans doute aucun, le tissu sanguin des grenouilles centrifugées, traité par le sulfate de soude, est plus dense que celui des grenouilles normales, préparé de la même façon.

D'autre part enfin, on peut suivre ce phénomène jusqu'à son terme ultime, jusqu'à la coagulation pour ainsi dire dans les vaisseaux faute de sérum. Il suffit de faire tourner les grenouilles, pas très vite (150 tours suffisent²). Petit à petit, les sujets se ratatinent pour finir momifiés, au point extrême, infiniment plus secs qu'on ne peut les obtenir en laissant plonger leurs pattes dans des solutions déshydratantes³.

L'examen direct du sang prélevé à divers moments montre des globules abîmés, condensés de plus en plus.

¹ Cf. chapitre II : LES VISCOSIMÈTRES, de H. Clément.

² Pour éviter les causes de dessèchement imputables au déplacement d'air, placer l'appareil dans une enceinte riche en vapeur d'eau.

³ *Expérience classique*, de Cl. Bernard.

Il nous a paru intéressant de fixer dans le formol, au sortir de la centrifugeuse une grenouille de chacun des types principaux étudiés en vue d'examen anatomo-pathologique.

A l'autopsie, une chose frappe de prime abord. C'est l'aspect friable des muscles du côté où la force centrifuge agissait au maximum.

Chez tous les sujets, les organes sont non modifiés macroscopiquement, le foie est intact, le tube digestif reste plein. La vessie contient de l'urine. Les organes génitaux des deux sexes ne sont nullement atteints, et des œufs prêts à sortir ne furent pas expulsés comme chez le Bombyx.

Au microscope, on constate que les noyaux ne sont pas entraînés, le protoplasme non plus à l'une des extrémités cellulaires. Toutes les coupes examinées présentent à ce sujet une similitude complète.

Il faut donc admettre (comme nous avons commencé à le faire¹) une résistance beaucoup plus grande des tissus animaux que végétaux.

L'œsophage n'offre aucune modification. La muqueuse intestinale montre des tubes glandulaires à lumière très rétrécie chez les bêtes à tête centrale.

Les animaux orientés périphériquement présentent une turgescence marquée des vaisseaux hépatiques (troncs principaux et capillaires radiés).

Il existe une violente congestion des reins lorsque la force centrifuge agit principalement sur le bipède postérieur.

Le cœur apparaît sans lésions. Les parois des artères sont normales et ne présentent aucune déchirure des tuniques, aucune poche anévrysmale. La dilatation du système circulatoire considérable, sur le vif, utilisait donc normalement les artères, faisait jouer leur élasticité sans altérer en rien leurs parois.

Toutes les recherches sur le système nerveux central mon-

¹ Cf. même chapitre : LES INFUSOIRES.

trèrent la forte irrigation des cerveaux orientés périphériquement et l'ischémie de ceux disposés en sens inverse. Les veines béaient d'une manière très nette, dans le bipède le plus soumis à la centrifugation.

Ces quelques recherches histologiques grossières n'avaient qu'un but : corroborer les enseignements de la macroscopie.

Elles montrent surtout d'une façon précise la résistance bien supérieure des cellules animales comparées à celles des végétaux et la non sortie des globules rouges au travers des capillaires.

Mammifères. — Désireux d'expérimenter sur des êtres plus perfectionnés encore, nous avons établi un appareil¹ pour centrifuger des Rats, des Cobayes et des Lapins.

Au mois d'avril 1914, nous avons même reçu deux Macaques pour clôturer sur eux nos travaux. Malheureusement, il fallut d'abord apprivoiser ces animaux, les rendre aptes à circuler en liberté. Ce fut une tâche fort longue. Aussi étaient-ils à peine utilisables au commencement d'août. Et comme beaucoup d'autres laboratoires, nous avons dû les premiers jours de la guerre, abandonner nos animaux, le personnel chargé de les garder, ayant été mobilisé ou utilisé en vue de l'intérêt général.

Cinq ordres d'expériences furent institués sur les Rats, Cobayes et Lapins :

1° L'animal est centrifugé avec la tête placée dans le sens de la rotation ;

2° L'animal est centrifugé avec la tête orientée dans le sens opposé ;

3° L'animal est centrifugé avec la tête disposée du côté périphérique ;

4° L'animal est centrifugé avec la tête tournée du côté central ;

5° L'animal est enfin centrifugé avec la tête et la queue

¹ Cf. chapitre premier. Cet appareil communiquant librement avec l'air, évite toute perturbation susceptible d'être produite par un milieu confiné.

simultanément périphériques, c'est-à-dire le centre de l'appareil passant par le milieu du corps.

1^o *Tête placée dans le sens de la rotation :*

Les phénomènes observés sont identiques chez les différents Mammifères utilisés, mais, par suite de sa vivacité, le Rat donne d'excellents résultats. Il est spécialement à conseiller. D'autre part, sa petite taille ne nécessite pas d'appareils trop volumineux.

Avec une vitesse de 800 à 900 tours, l'animal est obnubilé en trois minutes. Sorti de la machine à ce moment, il titube, écarte de plus en plus les pattes antérieures, probablement pour agrandir sa cage thoracique, car il présente une dyspnée intense, ou pour augmenter son polygone de sustentation.

La tête, au lieu d'être rectiligne, se tourne latéralement, les yeux regardant du même côté. Si on essaye de la placer dans la position naturelle, on y parvient aisément, mais dès qu'on l'abandonne à elle-même, elle reprend sa situation primitive.

Ce syndrome, très connu des cliniciens, fut étudié, et décrit par Vulpian sous le nom de déviation conjuguée de la tête et des yeux.

Cette déviation se ferait du côté opposé à la partie lésée du cerveau la produisant, comme si le malade se détournait de sa lésion, d'origine protubérantielle pour Desnos.

Sur les bêtes centrifugées, les yeux regardent en sens inverse de l'axe de l'appareil. Le phénomène est fort net chez les Lapins.

Les troubles sont encore très superficiels, car, laissés au repos, l'animal revient peu à peu à son état naturel. Le lendemain matin, les individus traités la veille vers 17 heures sont dans leur cages, mangeant comme les autres. Il serait impossible de les distinguer sans leurs plaques indicatrices.

Huit minutes de centrifugation semblable produisent chez les Rats et Lapins des mouvements irrésistibles en baril, de gauche à droite, c'est-à-dire inverses à la marche de l'appareil.

Ces lésions sont encore curables. Tout en une nuit rentre dans l'ordre.

Si de huit minutes l'opération est portée à un quart d'heure (douze minutes exactement), il y a anesthésie complète avec perte du réflexe oculaire. A cette phase, l'animal ne se rétablira plus, cependant son état s'améliore avec le repos. Mais il reste dans un coin couché, soit sur le flanc, soit sur le ventre, ne mange pas, ne se défend point, si ses compagnons viennent à lui dérober sa nourriture.

Ayant eu une femelle dont la présence troublait profondément les mâles voisins, les incitant à se livrer bataille, nous l'avons isolée avec un Rat centrifugé huit minutes, sans qu'il fit cas d'elle. Deux jours après, ce Rat mourut sans que l'autopsie ait pu révéler aucune lésion splanchnique.

Contrairement aux Papillons Bombyx et comme les Grenouilles, les Mammifères n'urinent ni ne défèquent à cette période du traitement.

Vingt minutes de rotation aux mêmes vitesses suffisent à donner la mort. Ce temps fut fatal à tous les Rats examinés, sauf un plus résistant qui rendit le dernier soupir après vingt-cinq minutes.

L'autopsie, immédiatement pratiquée, ne montre aucune lésion brutale des organes, pas de déchirure des glandes pancréatiques, hépatiques, des reins ou de la vessie, pas de fractures.

Le cœur en diastole renferme un sang non pas asphyxique, mais brunâtre, se coagulant très vite. Les ventricules ne peuvent être mis en mouvement, même par une excitation violente (piqûre, pincement), tandis que les oreillettes sont susceptibles dans les mêmes conditions de donner quelques battements.

Pas d'infarctus pulmonaire. Le péritoine renferme une sérosité claire, citrine, sans louche aucun.

La matière cérébrale n'est pas écrasée. Le cerveau sectionné en coupes parallèles et perpendiculaires à son grand axe est exempt de toute hémorragie.

Mais il en existe une violente dans l'hémisphère gauche du cervelet complètement inondé de sang.

2° *Tête opposée à la rotation :*

La marche des phénomènes ressemble beaucoup à celle précédemment indiquée.

Trois minutes donnent de l'abrutissement, de la titubation, de l'écartement des membres antérieurs, mais moins marqué, une déviation conjuguée de la tête et des yeux en sens inverse du premier cas.

Huit minutes produisent des mouvements irrésistibles en baril de droite à gauche, c'est-à-dire analogues au déplacement de la centrifugeuse.

La mort survient, comme dans la première position, en vingt minutes environ.

Mêmes constatations à la nécropsie que tout à l'heure. Toutefois, l'hémorragie cérébelleuse siège à droite.

Avant de passer à l'étude de la troisième position, nous avons institué de nouvelles expériences que voici :

On arrête l'opération après huit minutes, c'est-à-dire lors de l'apparition des mouvements en baril. Ceux-ci, dûment constatés, avec l'orientation 1 par exemple, puis nous plaçons les sujets suivant le second dispositif.

Le contraire a été également tenté. Des animaux primitivement tournés, la tête opposée à la marche du moteur, furent ensuite disposés en sens inverse.

Nous pensions que ces deux centrifugations successives effectuées coup sur coup dans des conditions inverses pendant des temps égaux, se contre-balanceraient l'une l'autre.

Il n'en fut rien : l'animal, au sortir de la centrifugeuse, titube, hésite pour ainsi dire, puis brusquement se trouve entraîné du côté de la lésion primitive. Il fait alors de longues pauses sur le dos, agite les membres, cherche à se mouvoir de nouveau, mais ne peut se relever qu'aidé. Si on lui tend une règle, il la saisit, se remet d'aplomb et le cycle recommence, il hésite, balance, pour tomber finalement le ventre en l'air.

Mais, nous insistons sur ce point, l'entraînement irrésistible

précédant la stase dorsale, se produit toujours du côté de la lésion primitive.

Les deux centrifugations, pour ne pas s'annuler complètement, exercent toutefois une action réciproque l'une sur l'autre. En effet, l'animal traité seize minutes en tout, n'est pas mourant, comme le serait un de ses congénères resté le même temps dans une seule position.

Le meilleur moyen de surprendre le secret de ces lésions nous parut être une strangulation brutale d'un rat ainsi centrifugé. Tout autre procédé de mort pourrait fausser les résultats.

Avant la centrifugation d'un rat, nous lui passons un fort cordon autour du cou. Puis, après huit minutes de rotation dans un sens, huit minutes dans l'autre, nous l'étranglons brusquement et faisons l'autopsie.

Rien à signaler pour les organes de la cavité thoraco-abdominale, mais il existe une stase sanguine considérable du cerveau postérieur.

3° *Tête périphérique :*

Pour pouvoir disposer les sujets dans notre essoreuse, nous avons dû abandonner souvent le lapin et n'utiliser que le rat et les cobayes. Ces derniers, fort dociles, commodes à entraîner sont faciles à orienter.

Après trois minutes de rotation à 900 tours, les cobayes furent non seulement abrutis, comme dans la position 1 et 2, mais pris déjà de mouvements irrésistibles. Les rats réagissent un peu moins vite. Quatre minutes sont nécessaires.

Malgré tout, cette position est donc beaucoup plus active que celles déjà décrites.

Les animaux ne sont pas entraînés comme précédemment, à l'instar de barils, mais « en aiguilles de montre » et dans une direction opposée à la rotation de l'essoreuse.

A ce propos, rappelons le fait déjà signalé des grenouilles, tournant en sens inverse de la centrifugeuse.

Ainsi que pour les Batraciens, il y a également concentra-

tion sanguine, générale, mais plus accentuée encore dans le bipède antérieur. Les calculs donnent en chiffre rond, 6.000.000 d'hématies pour l'un et 5.870.000 pour l'autre.

Trois minutes suffisent encore pour injecter les téguments, pour faire apparaître des placards rosés dans les régions sans poils, et rendre les conjonctives hyperhémisées et leurs culs-de-sac enflammés.

Ces phénomènes peuvent cependant s'amender. Après trois ou quatre heures, l'animal reprend une vie normale. En attendant, il rampe, essaye de marcher droit, vacille.

La mort survient toujours après quinze minutes de centrifugation avec la tête périphérique.

L'autopsie, pratiquée aussitôt, montre des troubles congestifs du cerveau en général et du métencéphale en particulier.

Comme pour les grenouilles, les muscles paraissent lavés. Les placards cutanés ne renferment ni globules rouges extravasés, ni hémoglobine laquée.

Pas d'infarctus pulmonaire. Le foie est gorgé de sang. L'estomac, l'intestin, la vessie sont à demi remplis.

Aucun rejet de fèces, ni d'urine.

4° *Tête orientée du côté central :*

Avec cette position, les sujets ne présentent pas de mouvements involontaires, sont abattus, dans un complet relâchement musculaire.

Ils réagissent peu ou point à la piqure, traînent le train postérieur et gardent la tête placée entre les pattes antérieures.

Chez le lapin, les oreilles apparaissent livides par transparence. Un frottement, même énergique, ne ramène par leur coloration primitive.

Pour obtenir ce cortège de perturbations, huit minutes sont nécessaires. Quinze minutes de traitement n'empêchent pas toujours un certain retour à la santé avec le repos. Six heures plus tard, les lapins placent encore volontiers le museau entre leurs pattes. Le lendemain, tout peut avoir disparu.

Mais, une fois le quart d'heure dépassé, plus rien n'est à espérer, la mort arrive bientôt.

A l'autopsie, il existe une stase généralisée du sang dans tout le train postérieur ; les vaisseaux, dilatés à l'excès, n'ont pas cependant éclaté ; le cerveau semble d'une teinte cireuse, à peine rehaussée de rose par-ci, par-là.

5° Tête et queue orientées du côté périphérique :

Il semblait *a priori* que les lapins, ainsi disposés, présenteraient simplement les troubles de 1 et 2 réunis. En réalité, les choses sont un peu différentes.

Après six minutes d'une rotation à 900 tours, il y a déviation conjuguée de la tête et des yeux en sens inverse du mouvement de la machine. L'animal dodeline de la tête, présente des troubles locomoteurs avec balancements alternatifs et légers du corps vers la droite et vers la gauche. La face est injectée. Le train postérieur, flasque, reste insensible à des excitations violentes (pincements).

Cette anesthésie diminue peu à peu, en s'irradiant à l'abdomen et au thorax.

Le nécropsie ne révèle aucune lésion brutale des organes, sauf une congestion du cerveau puis des reins. Celle de l'encéphale est moins marquée toutefois qu'en 3. L'estomac, l'intestin et la vessie restent pleins.

*
**

Les troubles du sang signalés dans ces différents cas tiennent aux pertes de sérum et à l'hyperconcentration du plasma.

Quant aux manifestations nerveuses constatées sous l'aspect de mouvements irrésistibles :

En baril, de gauche à droite, avec les têtes tournées dans le sens de la rotation ;

En baril, de droite à gauche, avec les têtes orientées de façon contraire ;

En aiguilles de montre, avec les têtes périphériques ;

Ces manifestations, disons-nous, sont analogues à celles produites par des lésions des pédoncules :

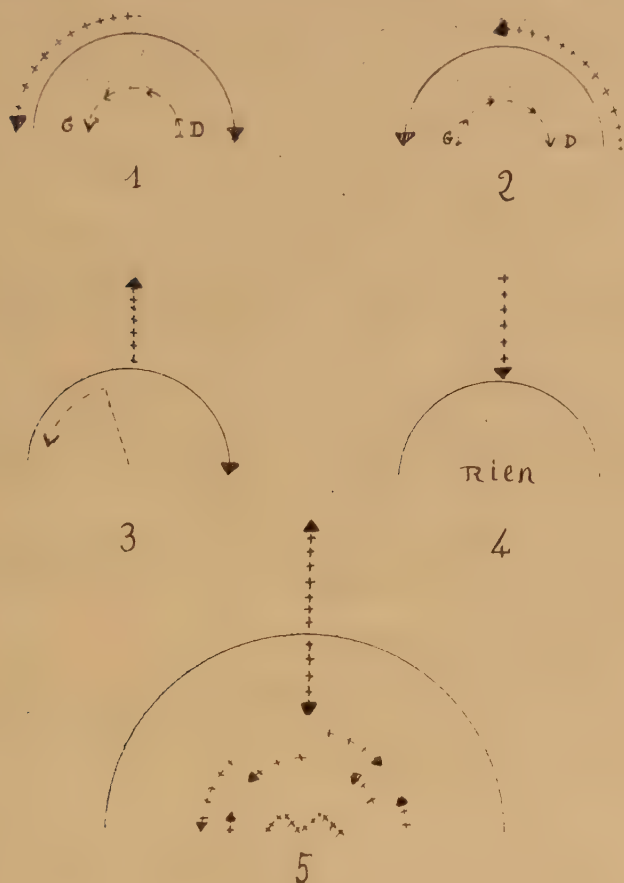


FIG. 59.

Cérébelleux moyens, dans le cas du baril¹ ;

Cérébelleux supérieurs, dans celui des aiguilles de montre.

¹ Nous avons réuni en un tableau (n° 59) ces divers mouvements et la façon de les produire.

——— indique le sens de rotation des appareils. ++++ la position des animaux ——— les mouvements irrésistibles au n° 5 les lignes concentriques figurées ++++, le furent par erreur, elles devraient être sous forme de ———.

Les physiologistes sont unanimes aujourd'hui à déclarer l'interprétation de ces phénomènes comme fort difficile.

L'expérimentation apprend simplement que, pour les lésions des pédoncules cérébelleux moyens, l'animal tourne du côté sain vers le côté lésé, tandis qu'il « fuit sa lésion » pour les troubles dus aux pédoncules supérieurs.

Les pédoncules cérébraux atteints dans leur intégrité produisent des manifestations identiques.

Une seule chose nous permet donc d'incriminer les uns plutôt que les autres: ce sont les hémorragies constatées au cours des autopsies pratiquées soit après mort naturelle, soit après strangulation.

Le mot hémorragie est d'ailleurs excessif dans le cas des nécropsies, après étranglement. C'est stase qu'il faut dire.

Quant à savoir le pourquoi de cette stagnation sanguine en certains points, ce n'est pas chose facile.

Et, la seule explication à donner apparaît bien simpliste... Le sang séjourne en ces points qui sont sans doute des lieux de moindre résistance!

Que dire, d'autre, en effet?

Pour ne pas interrompre les descriptions des troubles dus à la centrifugation, nous avons cru bon de renvoyer ici l'étude des tracés pris sur des lapins¹.

¹ Rappelons à ce sujet notre appareil pour mesurer les temps (*Société Linnéenne de Lyon*, t. LXII, 1915). Il s'agit d'un électro-aimant muni d'un trembleur T actionné par une pile de force électromotrice constante P, fig. 60.

Lorsqu'on relie aux bornes du signal S, d'une part la vis platinée *m*, de l'autre le trembleur T, les vibrations de l'interrupteur se trouvent fidèlement transmises au Despretz.

La vis platinée doit être du type micrométrique et posséder une large tête A portant des graduations A', facile à mouvoir.

Suivant que l'écart sera plus ou moins grand entre le trembleur et la pointe de la vis, on aura un rythme vibratoire différent, rythme d'autant plus rapide que la distance sera moindre.

Il suffit donc d'un étalonnage préalable avec des diapasons chronographes pour pouvoir à volonté marquer telle ou telle fraction de seconde, par simple déplacement de la tête de vis devant l'index I. A défaut de diapasons, il suffira de faire fonctionner notre système pendant 2, 3, 5 secondes, par exemple, et de diviser le

Le graphique 61 montre la respiration excessivement rapide d'un Lapin centrifugé pendant 10 minutes « la tête dans le sens du mouvement ». Prise avec une canule trachéale¹, elle est assez régulière dans son ensemble.

Le tracé 62, pris un peu plus tard, montre un changement complet d'allures à des inspirations de grande amplitude

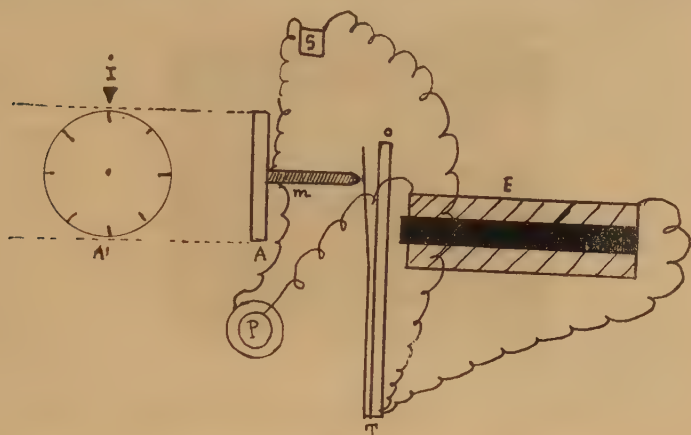


FIG. 60.

comparables aux précédentes, succèdent, une série de mouvements très faibles, figurant une variété de Cheyne-Stokes.

Si l'on augmente la vitesse (1.000 tours), bientôt le rythme désordonné se calme petit à petit et l'animal meurt.

Dans cette première position, le cœur est simplement ralenti.

Tous ces phénomènes cardio-pulmonaires existent, mais moins marqués chez les Lapins à tête orientée inversement. Toutefois le Cheyne-Stokes fait défaut.

Il est intéressant de comparer à la figure 63 (cycles cardiaque normaux) la figure 64, obtenue sur un sujet centrifugé avec la « tête périphérique ». La courbe enregistrée, d'allure très

nombre de vibrations inscrites par 2, 3, 5, pour connaître sa vitesse. Bien plus, on peut supprimer le signal en fixant une plume appropriée à l'extrémité O du trembleur.

¹ Toutes les respirations furent obtenues par ce moyen.

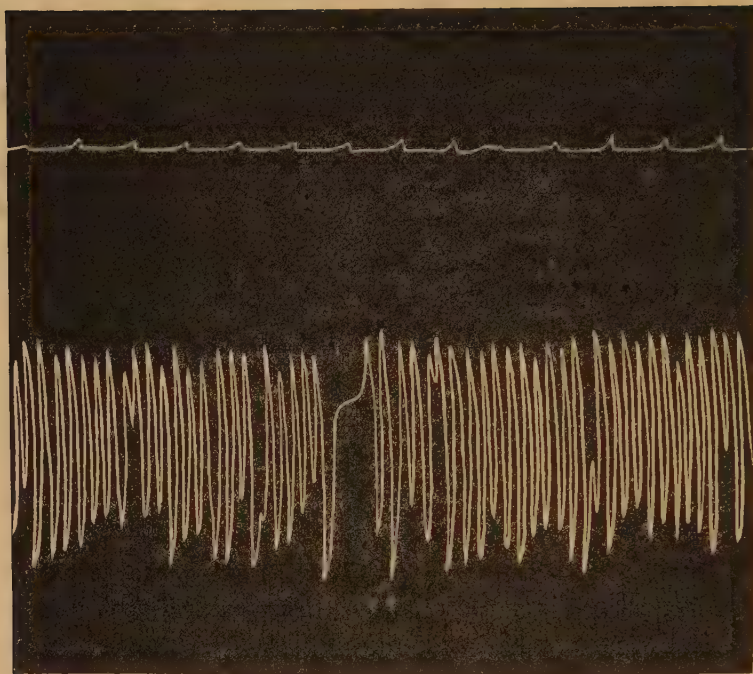


FIG. 61.

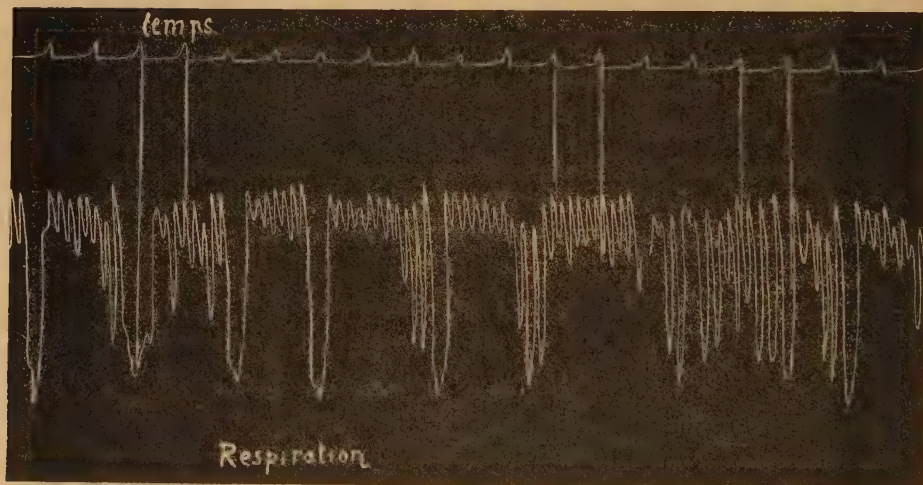


FIG. 62.

lente (une contraction par seconde), mais très ample, représente une marche sans à-coups (pas d'angles aigus). Nous avons déjà signalé semblables caractères pour la Grenouille.

Le parallélisme avec ces Batraciens se retrouve aussi chez les Lapins à tête centrale. Le muscle cardiaque offre des contractions moins fréquentes et bien moins prononcées que dans le cas précédent (fig. 65).

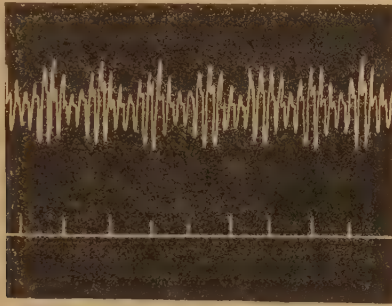


FIG. 63.

Qu'il s'agisse de la position 3 ou 4, la cage thoracique fonctionne avec peine et très vite, mais sans troubles particuliers.

Enfin la courbe 66 fut obtenue avec un animal « tête et queue périphériques ». Comment l'interpréter? S'agit-il d'un enregistrement décomposé des ventricules et des oreillettes? Le procédé utilisé¹ ne saurait donner de semblables détails... Un tracé pneumographique pris simultanément, montre d'ailleurs une superposition des mouvements du cœur et des poumons sur la courbe en question. Nous avons donc en réalité un rythme cardiaque ralenti et de faible amplitude.

■
* *

On connaît notre intention primitive d'expérimenter sur les Singes et les circonstances qui nous en empêchèrent.

¹ Procédé dit de l'aiguille.

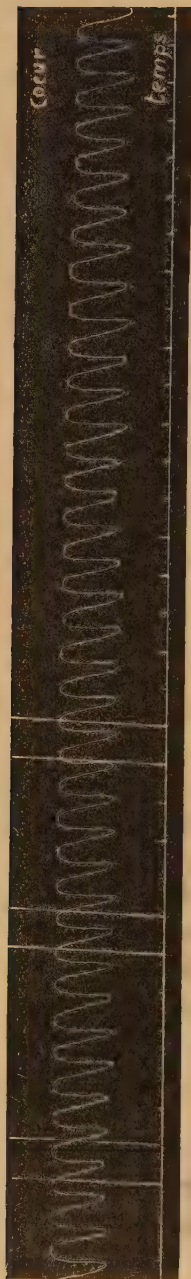


FIG. 64.

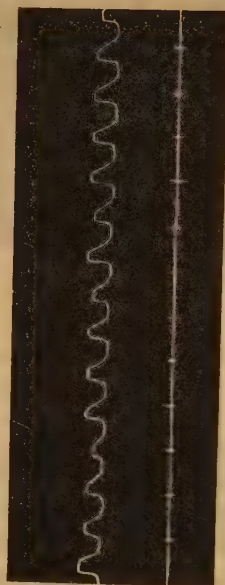


FIG. 65.



FIG. 66.

Nous comptions faire plus encore, en essayant prudemment sur les conseils de notre maître le professeur Raphaël Dubois, la centrifugation humaine, de manière à pouvoir relater les sensations éprouvées, puis à en tirer quelques données psychologiques.

Construire des centrifugeuses assez vastes pour enfermer un Homme eut été chimérique, mais, nous songions à utiliser les *attractions* venues depuis peu dans nos foires, sous des noms aussi étranges que peu scientifiques¹.

A l'Exposition de Lyon existait précisément un « plateau de la danse ». C'était, comme son nom l'indique une immense surface ronde. Un moteur électrique la mettait en mouvements. A la grande joie des spectateurs, les audacieux montés sur l'appareil fuyaient petit à petit par la tangente au fur et à mesure que la vitesse croissait.

Le directeur de cette intéressante entreprise avait bien voulu mettre à notre disposition son contremaître pour manœuvrer le plateau à toutes les vitesses possibles.

Sitôt les vacances commencées, quelques amis de bonne volonté devaient nous accompagner.

Mais le 1^{er} août, le parc d'attractions essentiellement germanique était fermé, le directeur devançant les événements, fuyait avant d'être appréhendé.

Nous apportons donc seulement les résultats de trois séances d'autocentrifugation heureusement faites avant la guerre, c'est peu, comparé à ce que nous escomptions.

Le premier jour, nous avons été entraîné, à 30 tours par minute, ce qui sur les bords de l'appareil représente une vitesse assez appréciable.

Tout d'abord, la tête dans le sens de la rotation, les yeux ouverts, il nous fut loisible de nous maintenir quelques secondes seulement sur le disque.

En sortant, on éprouve la sensation d'être projeté au

¹ « Plateau de la danse », « Saladier d'amour », « Plaisir céleste », etc., etc.

dehors avec tant de violence que l'on est surpris de se retrouver intact.

Orienté la tête en sens inverse du mouvement, on peut, par une sorte de piétinement sur place au début, rester un peu plus longtemps (dix à douze secondes) sur l'appareil.

Les mêmes expériences, répétées avec les yeux fermés, puis bandés (tant il est difficile de ne pas les ouvrir) sont excessivement pénibles, l'esprit restant dominé par la crainte d'une catastrophe.

Enfin, pour résister plus longtemps à la force centrifuge, nous avons répété une seconde fois les essais ci-dessus, mais dans la station couchée.

Avec la tête orientée dans le sens de la marche du plateau, on éprouve des bourdonnements d'oreilles violents. Le temps de relever le bras pour demander l'arrêt de l'appareil et nous ressentions en descendant par terre des piqûres généralisées de la face, du cou, du thorax, comparables à celles produites par les agents vaso-dilatateurs.

La tête inversement dirigée, on ne perçoit rien de semblable, mais une titubation assez marquée se manifeste après vingt secondes d'expérience.

Si quelqu'un de remarquablement vigoureux désire reprendre cette étude, il devra utiliser, non plus le « plateau de la danse », mais le « saladier d'amour »¹, qui, avec ses excavations, donne une stabilité plus grande au patient!

¹ Le Saladier est un disque perforé de cuvettes profondes rembourrées de ressorts ..., chacun y est entraîné. Hommes, femmes ..., tout est confondu! d'où ce nom grivois donné au système.

CHAPITRE VII

EFFETS DE LA CENTRIFUGATION SUR LES VÉGÉTAUX

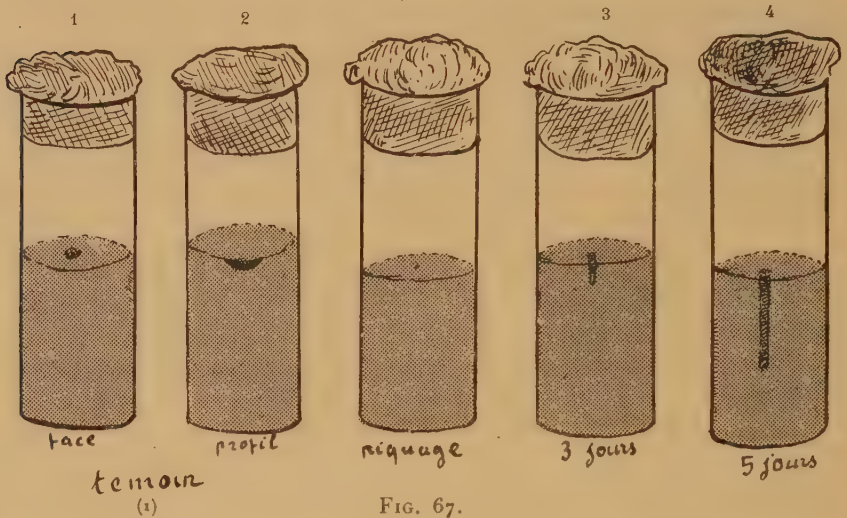
Maintenant que nous connaissons les effets de la force centrifuge sur les principaux embranchements du règne animal, il nous reste encore à étudier comment elle agit sur les végétaux.

Thallophytes. — Voici d'abord quelques expériences relatives à ix microbes et aux champignons. Nous avons hésité avant de savoir où classer nos recherches sur les bactéries? L'idée nous vint même, de faire un chapitre spécial pour les protistes, où nous aurions parlé conjointement de quelques animaux et de quelques végétaux inférieurs. Mais tous les biologistes récents considérant les bactéries comme végétales, nous suivrons leur manière de voir... Cette indécision montre, comme aime à le répéter dans ses cours notre maître le professeur Dubois¹ que : *Natura non facit saltus*... De même que de la matière brute à la matière vivante, la distance est trop faible pour tracer entre les deux une limite, de même, séparer le règne végétal de l'animal est difficile; aussi tous les caractères distinctifs donnés (présence ou absence de la cellulose..., différence du métabolisme constructif et destructif.... existence ou manque de chlorophylle, etc.), qui

¹ *Leçons de Physiologie générale et comparée*, par R. Dubois (*loc. cit.*).

paraissent convaincants dans bien des cas, rencontrent des exceptions dans beaucoup d'autres aussi.

Si l'on met une culture quelconque de microbes ne liquéfiant pas la gélatine, dans une centrifugeuse étuve, on constate qu'elle se développe sans peine aucune; contrairement aux



graines et aux œufs, les cultures poussent quelle que soit la durée de la rotation.

Nos essais portèrent au début, sur le *Micrococcus lactis acidi*, qui donne en se multipliant des colonies blanches.

Il faut pratiquer un ensemencement en piqûres aussi fines que possible et garder plusieurs tubes témoins. Pour piquer, le mieux est de retourner le tube, de manière à éviter tout microbe liquéfiant susceptible de rendre les résultats moins nets.

Tandis que les tubes témoins présentent bientôt une légère capsule vus latéralement et une plaque ronde vus par dessus (cf. fig. 67, nos 1 et 2), les centrifugées donnent une colonie en forme de clou de plus en plus longue (cf. fig. 67, nos 3-4).

¹ Le terme face est ici mis pour : par dessus; et celui de profil, correspond à latéralement.

La tige sera d'autant plus mince, plus allongée que l'appareil aura tourné plus vite. En inclinant diversement les récipients, on arrive à obtenir des types très compliqués.

Le *Pénicillium* cultivé en surface sur de petites plaques susceptibles de rester bien horizontales dans la centrifugeuse, peut prendre les positions les plus variées. Nous en avons eu de digité, d'autre en éventail. Bref, la culture suit toujours l'entraînement de la force centrifuge. Rappelons à ce sujet que d'autres forces (le magnétisme par exemple), peuvent influencer aussi l'orientation des colonies microbiennes¹.

Les espèces centrifugées suffisamment longtemps diminuent de taille. Les bactéries du foin sont très commodes pour constater cette modification.

Il suffit de découper finement quelques grammes de foin dans un grand verre et de le faire tremper dans l'eau ordinaire. Une macération de quatre heures suffit en général. On filtre ensuite pour arrêter les brindilles d'herbes.

Le liquide limpide ainsi obtenu est alors versé dans des flacons de Erlenmeyer par exemple, et on pasteurise vingt minutes dans la vapeur d'eau. L'autoclave ouvert remplit très bien les conditions requises. Après une journée d'étuve à 25 degrés, on examine le bouillon.

Celui non pasteurisé contient une flore des plus riches, tandis que celui passé à l'autoclave présente uniquement de gros bâtonnets mobiles, avec parfois des granules réfringents ou spores. Ces bâtonnets sont les bactéries du foin. Le *Bacillus subtilis*, qui seul nous intéresse, se trouve assez souvent mélangé au *B. mesentericus vulgatus* de la pomme de terre.

Une fois le *subtilis* dûment isolé, ensemençons avec lui des tubes de bouillon pasteurisé, mais non passé à l'étuve. Ces tubes sont alors mis à centrifuger à 600 tours et à 25 degrés, à côté des témoins. Quinze jours plus tard, arrêtons la

¹ Cf. R. Dubois, Influence du magnétisme sur l'orientation des colonies microbiennes (*C. R. Soc. Biologie*, s. 8, III, p. 127, 1886).

machine et nous constaterons la disparition des bâtonnets dans les vases traités, leur persistance dans les autres.

A la place on trouve des organismes qui apparaissent comme des Cocci (avec un 7 de Verick + oculaire 2).

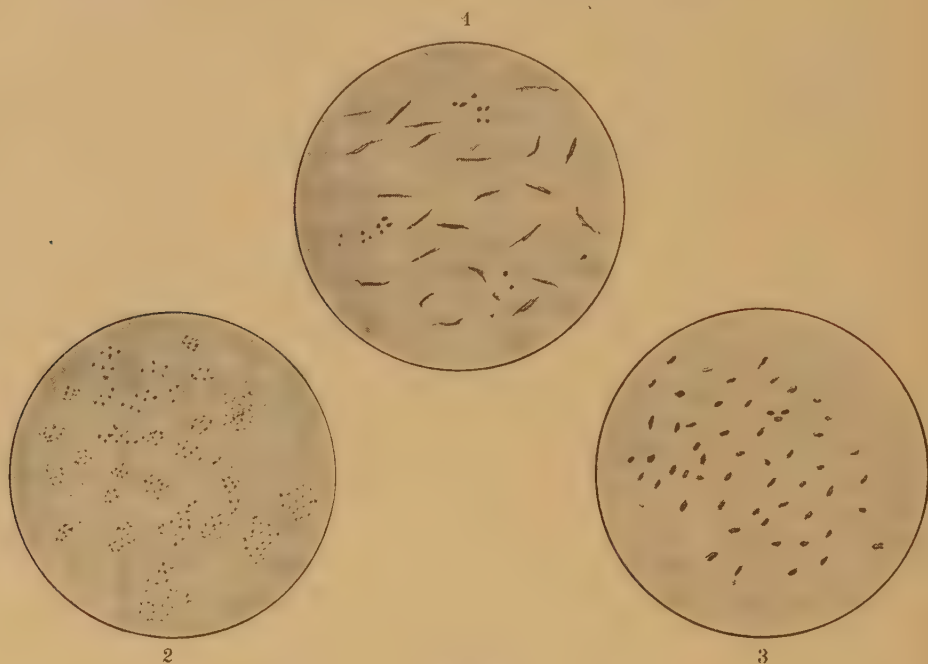


FIG. 68.

Ces Cocci remuent si faiblement qu'il est difficile de savoir si l'on est en présence de mouvements propres, ou de mouvements dus aux courants des milieux de la préparation.

Avec un objectif à immersion de un douzième Leitz et un oculaire 4, on voit qu'il ne s'agit pas de Cocci, mais de la forme Bactérium. La fig. n° 68 représente en 1 le stade intermédiaire où quelques Cocci seulement apparaissent à côté d'impuretés, en 2, une culture de ces organismes vus avec le 7 de Verick, et en 3, la même culture étudiée avec la combinaison Leitz.

Si on ensemence de ces Schizophytes du bouillon vierge, petit à petit le *B. subtilis* reprend sa taille.

Bien qu'il ne puisse, suivant toute probabilité, s'agir d'autre chose, la culture primitive étant rigoureusement sélectionnée, il existe un procédé chimique de vérification.

Le *B. subtilis* produit en effet de l'indol, cherchons-le donc.

Pour ce faire, Ehrlich recommande d'additionner le liquide soupçonné de 5 centimètres cubes d'une solution de diméthyl-amido-benzaldéhyde-chlorydrique (facile à préparer avec 4 grammes de paradiméthyl-amido-benzaldéhyde + 380 centimètres cubes d'alcool à 96 degrés + 80 centimètres cubes d'acide chlorydrique concentré), d'ajouter ensuite 5 centimètres cubes d'un soluté aqueux saturé de persulfate de potassium. L'indol donne un rouge vif.

C'est là, paraît-il, le meilleur procédé, mais n'ayant pu nous procurer les réactifs voulus, par suite de la guerre, nous avons suivi la méthode Salkowski, bien plus simple. On ajoute à un tube de culture âgé de dix jours au moins, 1 centimètre cube de nitrate de soude à 0,5 pour 1.000, puis on verse 4 centimètres cubes d'acide sulfurique à 10 pour 100. L'indol se manifeste par une coloration rouge vineuse¹. Les cultures examinées nous donnèrent des résultats positifs.

L'identification est commode, on le voit. Par contre, il était plus difficile de savoir si les formes nouvelles représentaient une sporulation intense ou des bacilles diminués.

Pour nous, la première hypothèse n'est pas admissible, car c'est à peine si l'on rencontre quelques spores dans ces cultures.

D'ailleurs, pour lever tout doute, des numérations furent pratiquées. Au lieu d'employer la méthode indirecte dite des colonies, nous avons cherché à compter les individus.

Pour ce faire :

On prélève dans deux tubes du même âge, l'un normal, l'autre centrifugé, un quatre centième de centimètre cube, que l'on homogénéise avec 10 centimètres de bouillon stérile, par une forte agitation. On recueille avec le mélangeur de l'otain

¹ Cf. A. Böhne, *Centralblatt f. Bakteriologie. I. Abteilung orig.*, 40, p. 129; et *Handbuch der landwirtschaftlich Bakteriologie*, Dr F. Löhniss.

une division du liquide pour 100 d'eau distillée. Le tout bien brassé, on en dépose à l'anse de platine une gouttelette sur un porte-objet. Séchons, fixons, colorons légèrement. Il est facile alors de compter les individus avec un oculaire quadrillé.

La comparaison serait possible; même à un degré moins fort de dilution. Elle donne des chiffres sensiblement égaux entre eux. Cela tend donc bien à prouver qu'il n'y a pas de sporulation intense après application de la force centrifuge.

Si l'on désirait numérer les éléments dans un volume déterminé, il faudrait employer le compte-globules de Hayem¹. Pour compter exactement les bacilles, il importe de les tuer par coloration, de manière à les voir immobiles dans la surface du quadrillage, dont vivants, ils s'écarteraient sans cesse.

Le *B. subtilis* centrifugé et d'autres bacilles non déterminés se déplacent à peine disions-nous. Cela tient-il à un arrachement des cils? En semblable occurrence, ceux des infusoires traités restent cependant intacts².

Les procédés utilisés en général pour examiner les organes locomoteurs des microbes sont très compliqués. Aussi croyons-nous bon d'en indiquer un facile.

Il faut dégraisser des lamelles à la soude, à l'acide chlorhydrique bouillant. Bien les rincer à l'eau, puis à l'alcool éther³. Les mettre tiédir dans une étuve à 38 degrés. Porter la culture à semblable température. Déposer dans l'appareil chauffant des gouttes du liquide à essayer sur les porte-objets. Laisser sécher, fixer⁴, colorer avec la fuchsine phéniquée chaude⁵.

¹ Celui de Malassez et autres analogues risquent d'être abimés par le nettoyage obligatoire après une coloration sérieuse.

² Cf. chapitre VI : LES PARAMÉCIÉS.

³ Ces porte-objets ainsi préparés peuvent se conserver fort longtemps et servir au fur et à mesure des besoins.

⁴ Le mordant de Bunge est à recommander : 25 centimètres cubes d'une solution de chlorure de fer à 25 pour 100 sont mélangés à 75 pour 100 d'une solution aqueuse concentrée de tannin. Ce liquide agit en deux minutes. L'acide acétique, avant le mordantage, donne de la netteté.

⁵ Cf. Lehmann et Neumann, Grundriss der Bakteriologie. — Erlich-Weigert *Enzyklopädie der Mikroskopischen Technik*. — Strasburger : das botanische Praktikum.

Cette méthode révèle tous les cils des bacilles normaux, mais elle n'en révèle aucun chez les centrifugés. Ces organes ont donc disparu.

La force centrifuge agit non seulement sur les microbes, mais encore sur certains de leurs produits sécrétoires. Il convient de remarquer toutefois que cette action n'est pas d'ordre biologique, mais simplement physique. Elle correspond à un changement de densité comme ceux étudiés au début du mémoire.

La puissance du variolo-vaccin par exemple, est accrue par un séjour de ce corps dans une centrifugeuse. Une nombreuse suite de vaccinations pratiquées les premières semaines de la guerre nous permet de constater le fait.

Voici la façon d'opérer :

Il faut broyer longuement au mortier de silice, le variolo-vaccin dans de la glycérine. Le mélange une fois bien homogène doit être placé dans des tubes de 0,05 de diamètre environ. Les dimensions plus faibles ne valent rien¹. Après une heure de traitement à 2.000 tours puis une semaine à 500², une différence marquée d'activité existe entre le bout central et le bout périphérique. Bien entendu, il ne s'agit pas d'un broyage dans une grande quantité de liquide, la pulpe devant fatalement précipiter et la glycérine surnager. Cette dernière, ajoutée goutte à goutte, forme simplement une pâte fluide. Les sujets vaccinés reçurent tous, trois scarifications sous forme d'un triangle. L'un des sommets scarifié était garni de variolo-vaccin normal, l'autre, du culot le troisième des couches superficielles du tube centrifugé.

Sur quatre-vingt dix personnes³ soumises à l'expérience, le produit témoin fournit 70 pour 100 de réussite, le bout central 45 et l'extrémité périphérique 90 pour 100.

¹ Elles produisent trop de frottements, etc.

² Dans d'autres circonstances nous avons déjà remarqué qu'une force faible suffit à conserver les résultats acquis par une grande vitesse.

³ Il s'agit de gens âgés ou de jeunes enfants bien aptes à subir la contamination.

Voici d'ailleurs une liste de personnes étonnées spontanément par la grosseur spéciale d'une des trois pustules :

VACCIN CHAUMIER DE TOURS							
SUJETS	Bout périph.	Bout central	Témoin	SUJETS	Bout périph.	Bout central	Témoin
M. Dan...	+	—	+	M ^{lle} P. , fille, gend.	+	+	+
M ^{lle} An...	+	—	+	M. Z..., gendarme .	+	—	+
M ^{lle} Mar...	+	—	—	M. V..., gendarme .	+	+	+
M. X..., gendarme .	+	+	+	M. P..., percepteur.	+	—	+
M. X..., brigadier .	+	—	—	M ^{me} P...	+	+	+
M. Y..., gendarme .	—	—	—	M P..., fils.	+	—	—
M ^{me} femme, gend. .	+	+	+	M. J...	+	+	+
M ^{lle} X... fille, gend.	+	+	+	M. D..., cafetier . .	+	+	+
M ^{lle} Jeanne, gend. .	+	—	+	M ^{me} D...,	+	+	+
M ^{me} P..., femme, id.	—	—	—	M. D..., fils.	+	—	—
Réussites, o/o : témoins				70			
périphéri.				90			
central				45			

TABEAU 69.

Le signe + indique une vaccination faite avec succès, tandis que la notation — représente un résultat opposé.

Il nous semble intéressant de signaler ici une petite remarque faite constamment¹.

Les Saccharomyces fournissent eux aussi un champ assez vaste d'études.

¹ Aux séances obligatoires de vaccine, où la foule se presse nombreuse, il est impossible, faute de temps, de nettoyer les bras. La lancette seule est flambée... Eh bien, les quantités de réussites sont bien plus nombreuses chez les gens crasseux que chez les autres. Probablement qu'il se produit une symbiose. Les microbes de l'épiderme doivent servir d'adjuvants à ceux du vaccin.

Nous trouvant dans le Beaujolais à l'époque des vendanges, il nous fut donné de constater l'activité plus grande d'une culture liquide de levures, dans ses couches profondes, que dans les autres, après une centrifugation de 30 minutes à 2.000 tours et deux journées à 500.

Nous agissions chaque fois comme il suit :

On prépare du moût avec un pressoir à main, muni d'un tissu pour arrêter les pépins et autres impuretés.

Ce jus est divisé en lots de 5 litres. Ceux-ci sont ensemencés avec 15 centimètres de « levure » commerciale, ceux-là avec l'extrémité périphérique des tubes traités ou avec leur côté central, suivant les cas.

Les moûts ensemencés avec les culots partent après neuf heures en moyenne, ceux mélangés avec les couches superficielles en seize heures, et faiblement, tandis que la « levure » commerciale amène l'ébullition en onze heures. D'après nos séries d'expériences¹, ce chiffre est à peu près normal.

Examinés comparativement au microscope, les trois lots présentaient des aspects différents. Le culot renfermait beaucoup de levures bien vivantes, riches en bourgeons, tandis que les parties superficielles contenaient un maximum de un ou deux éléments par champ considéré, d'allure bien moins vigoureuse.

Cela tend à prouver que les organismes ferments dégénérés sont moins denses que ceux bien vivants². Des expériences d'un autre ordre nous poussent à penser que les microbes obéissent à la même loi.

En voyant la facilité avec laquelle la force centrifuge entraîne levures, microbes et champignons inférieurs, nous instituâmes un certain nombre de recherches pratiques.

Après une heure de centrifugation à 2.600 tours, la bière

¹ Cf. Hugues Clément, *Levures et Levurage, dix années d'expérience, Société de viticulture*, Lyon, 1913.

² Cf. chapitre II, paragraphe sur LES DIASTASES.

se trouve arrêtée dans ses fermentations secondaires, à condition de rejeter le culot du liquide. Six mois plus tard, les échantillons normaux sont troublés, les tubes traités d'une limpidité parfaite.

Des vins piqués sont clarifiés et à jamais préservés des spores qu'ils renfermaient, par un séjour de trente à quarante minutes dans une centrifugeuse.

Ce procédé semble susceptible d'applications. Ces vins vieillissent d'ailleurs plus vite et peut-être avec la pratique, sera-t-il loisible d'arrêter à tel ou tel point l'évolution d'un cru recherché. Beaucoup, en effet, acquièrent un maximum de qualité, puis vont en diminuant. Il serait donc utile de les fixer à cet optimum de valeur.

Dans le même ordre d'idées, nous rappelons que la force centrifuge peut faciliter certains diagnostics microscopiques.

Par exemple, lorsque les liquides à examiner sont pauvres en agents pathogènes, il doit être intéressant de réunir les organismes cherchés sous forme d'un culot le plus petit possible.

En France, MM. Besançon et de Joug, ont, voici quelques mois déjà, attiré l'attention sur ce procédé, pour diagnostiquer certaines tuberculoses.

A notre avis, la méthode est susceptible de généralisation. La difficulté de l'appliquer réside uniquement dans les densités variables de certains produits organiques. De là les nombreuses méthodes préconisées pour les homogénéiser.

Algues. — Les Euglènes sont fréquentes dans les flaques bourbeuses des fossés, emmenant les eaux ménagères. Ces petites algues colorent parfois leur milieu en vert, sans qu'il soit possible de rien distinguer à l'œil nu. Il est excessivement facile de s'en procurer.

Mises à centrifuger une demi-heure à 2.600 tours, les Euglènes ne sont nullement modifiées. Leur corps garde sa morphologie; il reste taillé en fuseau, large au milieu, étroit

aux deux extrémités, dont l'une plus émoussée que l'autre présente un long flagellum unique situé en avant.

Elles nagent aussi vite que les individus normaux et accomplissent parfois des mouvements de contraction lents, comme le ferait un petit ver, le corps se tordant tantôt à gauche, tantôt à droite, puis s'élargissant par son extrémité antérieure, son milieu ou son bout postérieur.

Cette façon de cheminer, assez caractéristique pour avoir donné le qualificatif d'euglénoïdes¹ à d'autres allures analogues, est parfaitement conservée.

Rien de changé non plus, ni dans l'ectoplasme, ni dans l'endoplasme. Ce dernier reste réparti comme avant l'opération. Le segment avant déprimé, comme toujours, porte un flagellum non brisé. Le noyau, la vacuole n'ont aucune lésion.

Tout se passe en un mot comme pour les Paramécies².

Ces algues doivent continuer à rester mobiles pendant la rotation, changer de positions et poursuivre leurs échanges avec le milieu extérieur.

Cela permettrait seul d'expliquer leur résistance pendant la vie. Cette résistance à la force centrifuge disparaît avec la mort.

Le pourcentage des enkystées ne varie ni en plus ni en moins.

Quant aux Diatomées, où nous espérons rencontrer quelques troubles, dans le mécanisme des divisions, elles se comportent (à traitement égal) comme les Euglènes, et ne sont altérées en rien.

Les mêmes algues centrifugées non plus à grande vitesse, mais cinq jours de suite à 500 tours, conservent leur aspect naturel. A peine quelques Euglènes sont-elles parvenues à vaincre la force centrifuge, à remonter le long des parois des tubes, qui les contiennent et à s'y maintenir solidement.

¹ Cf. *Leçons of élément. Biol.*, par T. Jeffery Parker, Nouvelle-Zélande, 1903 (*loc. cit.*).

² Cf. chapitre VI : LES ANIMAUX ADULTES.

Ce que nous avons dit¹, relativement à la cellule de Spirogyre, d'Elodea, etc., pourrait se répéter ici. Mais ce serait inutile, rappelons simplement les conclusions:

Chez les végétaux, la force centrifuge détruit l'architecture cellulaire, elle entraîne d'abord le protoplasma, puis ensuite le noyau et les chloroleucites.

Ces déplacements ne se produisent, au contraire, qu'exceptionnellement chez les animaux.

Une fois bouleversée, la cellule vit encore quelques jours, mais la mort est de règle, à bref délai.

Végétaux supérieurs. — Ces conclusions rapportées, voyons comment se comportent les végétaux supérieurs pris dans leur intégrité personnelle et non plus dans l'un ou l'autre de leurs organes constitutifs.

Nous savons depuis longtemps ce que deviennent les graines centrifugées et les plantes issues de leur germination. Examinons maintenant l'évolution des plantules semblablement traitées:

Quelques notions semblent utiles à rappeler ici.

Lorsqu'on place à l'abri de la lumière des jeunes plantes en position horizontale, on constate bientôt que les racines se courbent peu à peu, jusqu'au moment où, se trouvant dans le prolongement de la tige, elles se dirigeront d'une manière verticale, grâce à la pesanteur.

Cette propriété, bien spéciale, se nomme le géotropisme.

« La pesanteur seule est cause de ces mouvements. De même qu'un pendule se dispose par rapport à cette force, la plante tend à se mettre dans une position par rapport à la résultante de cette force attractive, la verticale². »

De nombreux expérimentateurs étudièrent ces questions. Celui qui les poussa le plus loin, Knight³, construisit une roue

¹ Cf. chapitre III : LA CELLULE.

² Cf. Chodat. *Principes de Botanique*, Georg, Genève, 1911.

³ *Selection from the physiological and horticultural papers* published by the A. Knight, 1841.

destinée à *démontrer que la gravitation oriente les végétaux en raison de l'accélération de masse exercée sur les organes sensibles.*

Pour réaliser ces essais, on dispose sur un disque horizontal des plantules dirigées dans tous les sens, puis on communique à cette roue un mouvement *rapide* autour d'un axe vertical.

Lorsque la force centrifuge égale la gravitation, les racines des plantules se dirigent vers l'extérieur, et prennent une position inclinée de 45 degrés vers le sol (résultante de la force centrifuge et de la gravitation). Mais, si on imprime au disque une plus grande vitesse, la force centrifuge augmente et les plantules croissent de plus en plus horizontalement, les racines dirigées vers l'extérieur, les tigelles vers le centre du disque. Ce qu'il y a d'important dans cette expérience, c'est qu'elle nous permet de substituer à *l'accélération de masse* communiquée par la pesanteur, une autre forme d'accélération par la force centrifuge.

Si la pesanteur est agissante dans l'orientation des végétaux, il suffirait de l'annuler, pour voir que les organes écartés de la verticale n'y reviennent pas, mais croissent dans la position où ils se trouvent.

On ne peut pas, en réalité, annuler la pesanteur, mais on peut supprimer ses effets, grâce au clinostat.

C'est encore un disque tournant sur un axe horizontal, au moyen d'un mouvement d'horlogerie. Les plantules fixées sur le plateau regardent alternativement le ciel, puis la terre. Les actions arrivent ainsi à s'opposer et l'effet directeur devient nul.

Ces détails montrent l'importance des influences cosmiques sur les êtres vivants.

Les expériences de Knight font songer à celles réalisées par M. Dubois sur les animaux et aux lois anticinétiques formulées par ce savant¹. Mais, elles en diffèrent essentiellement,

¹ V. Raphaël Dubois, Sur l'anticinèse rotatoire (*Comptes Rendus Société de Biologie*, t. LXXVIII, p. 617, 1915, et la note de la page 618 en particulier.

en raison des vitesses rotatoires respectivement employées¹.

Avant d'étudier les résultats produits par la force centrifuge sur les végétaux supérieurs, orientés de telle ou telle façon, nous avons cherché d'abord ce qu'elle produisait au point de vue général sur la jeune plante.

Les vitesses de 2 à 3.000 tours sont à proscrire sous peine de léser les organes. Celles de 500 conviennent à des traitements prolongés (sept à huit jours).

Bien entendu, il faut placer les sujets en milieu hydraté. Généralement, nous les installons sur du coton mouillé. L'atmosphère de l'étuve à centrifuger est elle-même riche en vapeur d'eau.

Malgré toutes ces précautions, la végétation est difficile. Comparée à celle des témoins poussés dans le même milieu, elle présente des signes de faiblesse extrême. Tiges et feuilles sont flasques, ridées.

Au sortir de l'appareil, les jeunes plantes peuvent être élevées, mais gardent leur aspect chétif. Après quarante-huit heures, si on leur donne beaucoup d'eau, une certaine turgescence tend à se manifester, les organismes se redressent,

¹ Ainsi qu'il l'a fait observer dans un travail récent (Raphaël Dubois, *les Origines naturelles de la guerre*, influences cosmiques et théorie anticinétique, in la Paix par la Science, p. 8, Georg, Lyon, 1916), il ne faut pas confondre les expériences de l'auteur sur l'*anticinèse* qui remontent à l'année 1881 avec celles qui ont trait à la centrifugation. C'est à tort que l'on a prétendu que les expériences de R. Dubois étaient une réédition de celles de Knight sur le géotropisme. Ce dernier s'est bien servi de la rotation d'un plateau horizontal, mais c'était pour étudier l'action de la force centrifuge, et, pour cela, il le faisait tourner à une grande vitesse, nullement en rapport avec celles dont s'est servi R. Dubois dans ses recherches.

D'ailleurs, l'*anticinèse* n'est pas forcément *rotatoire* ; elle peut s'exercer en ligne droite. C'est la propriété qui incite tout être vivant animal ou végétal, tout *bioprotéon*, à réagir contre un mouvement tendant à l'entraîner, ou exerçant une pression sur lui, qu'il s'agisse d'un agent mécanique ou physique, tel que l'eau, l'air, la force d'inertie, la lumière, etc. L'*anticinèse* est une des manifestations les plus générales de la propriété la plus caractéristique de la substance vivante ou *bioprotéon*, de l'*irritabilité*. Elle explique les faits que l'on désigne en général sous les noms de tropisme, expression antiscientifique dont il importe de se débarrasser, ainsi que l'a démontré le professeur Dubois au Congrès international de Psychologie de Genève (v. *Comptes rendus du Congrès de Genève*, 1909, p. 343).

mais ce début de restauration est de courte durée... la plante meurt bientôt.

Les coupes faites au microtome montrent des cellules plissées quant à leurs parois. Seul le tissu libero-ligneux reste d'aspect régulier, mais de petite taille ; la lumière des vaisseaux est de faible diamètre.

Sur des centaines de préparations en série, nous n'avons remarqué aucune autre modification de structure interne, ni dans la racine, ni dans l'axe hypocotylé, ni dans la tige. Les faisceaux de bois et de liber sont aussi nombreux que chez les plantes normales. L'épaisseur relative des tissus les uns par rapport aux autres n'est en rien changée.

Les expériences de Knight sont trop complètes et trop classiques pour nécessiter d'être contrôlées. Nous avons donc simplement examiné quelques points particuliers en étudiant les plantes supérieures comme nous avons étudié les Mammifères.

Par divers artifices, nous sommes parvenu à centrifuger de jeunes plantes, soit avec leurs racines, soit avec leurs feuilles en position périphérique.

On trouve dans le commerce anglais des petits pots gros comme deux dés à coudre, renfermant des graines destinées à produire des « Pixies Plantes ». Nos alliés utilisent cette végétation pour orner leurs tables et composer de gracieux surtouts !

Ces graines sont de deux variétés : les unes noires, les autres rouges, mais appartiennent à la même famille des Crucifères.

La terre des vases une fois humectée, on ferme le tout sous des verres à boire formant cloches de forçage. Des soucoupes placées dessous avec un peu d'eau empêchant le dessèchement.

Ces plantes sont fort précieuses ; car, parcourant leur cycle évolutif en quatre ou six jours, on peut agir sur elles durant toute leur croissance.

Vingt-quatre ou quarante-huit heures après les semis, ces derniers atteignent 2 centimètres de hauteur. C'est à ce moment où nous commençons la centrifugation.

Les essais tentés avec les racines en position périphérique sont des plus faciles. Les pots entrent sans peine dans la centrifugeuse, et la terre, retenue par la force agissante, ne saurait s'échapper.

Dans ce cas, on constate un gros accroissement du système souterrain comparé à la partie chlorophyllienne.

Nettement plus longues que chez les témoins, les racines n'en diffèrent aucunement ni par la couleur, ni par la forme.

Le système absorbant subsiste dans son intégrité.

La force centrifuge produit donc moins de troubles sur les plantes adultes que sur les graines en germination.

Toutefois, les sujets ainsi traités meurent bientôt (vingt heures avant les témoins¹), et ce malgré toutes les précautions possibles prises.

Il est fort délicat d'orienter les « Pixies » dans la position : racines centrales, sous peine de briser les jeunes pousses contre le fond des tubes centrifugés.

On y parvient cependant, voici comment :

Il faut disposer sur le pourtour des pots, entre le rebord et les graines semées bien au centre, du coton mouillé. Des fils passent au milieu des tiges croisés et recroisés, ils suffisent à retenir dans leurs mailles les grains constitutifs du sol, et s'imbibant sur la ouate, contribuent à maintenir l'humidité de l'ensemble.

Au fond des tubes de la centrifugeuse, des couronnes de liège empêchent les tiges de venir s'écraser. Celles-ci passent dans l'ouverture centrale, tandis que les bords des vases butent sur les appuis ménagés à cet effet.

Il convient d'augmenter un peu la vitesse et de réduire la durée à deux jours, pour ne point léser les jeunes pousses. Bien entendu, toutes les conditions de milieu (chaleur, humidité) doivent exister.

L'opération terminée, on constate que les racines ne quittent

¹ Rappelons que les « Pixies Plantes » normales vivent une semaine au maximum.

pas brusquement la verticale. Il y a lutte au début entre le géotropisme et la force centrifuge. Les organes, après un certain nombre d'oscillations, finissent par ne plus subir l'influence de la pesanteur, certains font un angle de 90 degrés, avec la normale, mais jamais il ne fut possible de le dépasser.

Quelques heures de rotation à 1.000 tours accentuèrent imperceptiblement l'angle formé, mais ce fut tout.

Avec des vitesses bien plus rapides, arriverait-on à faire mieux ? Tiges et racines finiraient-elles par devenir parallèles ? Rien ne permet de se prononcer.

La végétation aérienne ne présente dans ce cas aucun intérêt à être examinée. Placée dans de trop mauvaises conditions, il serait peu sage de vouloir rechercher ses modifications.

Des coupes minces pratiquées dans ces racines de croissance anormale, ne présentent rien de spécial, ni comme disposition, ni comme texture intime.

Pour continuer le parallélisme avec les expériences faites sur les animaux, nous centrifugeons enfin des plantes couchées soit le sommet de la tige dans le sens de la rotation, soit dans la direction opposée.

Nous ne relevons rien d'anormal, hormis une courbure du végétal, excentrique dans les deux cas à l'axe du moteur.

Tels sont les résultats acquis par l'examen de végétaux adultes soumis à la force centrifuge.

Bien des points peuvent sembler de minime importance, et cependant, pour émettre cette simple affirmation : rien n'est changé ; il fallut pratiquer beaucoup d'essais, exécuter de nombreuses coupes.

Mais, il y a parfois des modifications intimes difficiles à saisir, malgré les précautions techniques les plus minutieuses. Peut-être est-ce ici le cas.

CHAPITRE VIII

RÉSUMÉ DES RÉSULTATS OBTENUS

Avant de chercher à expliquer le mécanisme des résultats obtenus chez les êtres vivants soumis à la centrifugation, il nous semble bon de résumer très rapidement chaque chapitre de ce mémoire.

*
* *

Le facteur temps joue un grand rôle dans l'étude des manifestations suscitées par la force centrifuge.

Ainsi, une énergie totale E produite par centrifugation donnera des effets différents suivant qu'elle aura été obtenue en T , T^1 , T^2 , etc. Les changements observés sont plus intenses en T^1 qu'en T et en T^2 qu'en T^1 , etc., si $T^1 > T$, $T^2 > T^1$, etc.

Sauf dans certains cas bien particuliers, c'est toujours à une force faible agissant des heures, ou même des jours, que nous avons eu recours.

I. — MEMBRANES ET SOLUTIONS

La centrifugation augmente considérablement l'intensité de passage des solutions au travers des membranes artificielles et naturelles.

Cette augmentation a été constatée sur des membranes de

collodion, de xanthate de cellulose, de Schleicher, sur des membranes tapissant les coquilles d'œufs de poule, sur des vessies de porc, des peaux de pêche et même enfin sur des jugulaires. Dans ce dernier cas, nous avons vu qu'un segment de veine, rempli de sang et parfaitement ligaturé, ne donne rien s'il est centrifugé dans du sérum tonique, mais colore un milieu hypotonique alors que les témoins restent sans la plus légère teinte.

L'examen microscopique ne révèle aucun globule, l'hémoglobine seule a passé au travers des parois veineuses. Le caillot formé dans le segment centrifugé en milieu tonique est intact. Celui formé dans le segment centrifugé en solution hypotonique est complètement disloqué.

La centrifugation produit ainsi un laquage.

*
* *

La force centrifuge modifie les solutions de corps minéraux organiques et les pseudo-solutions colloïdales.

*
* *

Si nous centrifugeons très fortement une solution¹ et que nous en prélevions, d'une part, les couches supérieures, de l'autre, les couches profondes, nous voyons que :

Dans les premières :

Pour obtenir la congélation, il suffit d'un froid moins intense que celui nécessité par la solution témoin.

La tension superficielle est réduite.

Dans les secondes :

Pour obtenir l'état glace, il faut un abaissement de température supérieur à celui exigé par la solution témoin.

La tension superficielle est augmentée.

¹ Les solutions salines donnent les meilleurs résultats.

De tels changements semblent connexes aux modifications de densité produites par la force centrifuge dans les solutions.

Signalons que des liqueurs restées plusieurs années sans être remuées ne présentent pas, comme on pourrait le croire, de concentrations différentes entre leurs parties profondes et leur surface¹. Cependant, il suffit d'une centrifugation énergique pour en voir apparaître. Dans le cas de sirop simple, nous avons constaté de fortes variations tant par la méthode du flacon que par le polarimètre.

Ces variations sont excessivement fugaces. Une colonne liquide centrifugée, abandonnée à elle-même, s'unifie très rapidement comme densité.

Cela tend à prouver que les solutions sont composées de particules impossibles à distinguer encore avec nos ultramicroscopes actuels.

Les mouvements browniens doivent, par des brassages continuels et intenses, rétablir l'uniformité récemment rompue d'une solution, puis la maintenir par la suite.

*
* *

La centrifugation sous certaines conditions libère plus ou moins d'eau des gels.

Même très violente, elle ne change pas la densité des sols d'argyrol et autres métaux colloïdaux.

Les diastases se comportent différemment, suivant qu'il s'agit de ce que le professeur Dubois appelle les macro- et les microzymases.

Ainsi, la purpurase du *Murex brandaris* et la luciférase du *Pholas dactylus* sont fortement influencées par la centrifugation. Les culots renferment un très grand nombre de vacuolides caractéristiques de ces deux macrozymases.

¹ Nous avons pu opérer sur des solutions immobiles depuis dix ans.

Tandis que les mêmes phénomènes ne se produisent pas lorsqu'on opère sur de la salive, du suc gastrique, pancréatique ou autres microzymases¹.

II. — LA CELLULE

Ce que nous venons de constater au point de vue physico-chimique, nous le retrouvons dans la cellule.

Ne pouvant, bien entendu, expérimenter sur une seule cellule², nous avons employé une masse cellulaire et constaté que :

1° Sous l'influence de la centrifugation, la membrane laisse passer non seulement de l'eau, mais aussi des principes minéraux et organiques (sels, sucres, ferments);

2° Une pomme de terre centrifugée contient beaucoup plus de sucre dans son bout périphérique qu'elle n'en renferme dans son bout central;

3° Dans une pomme de terre centrifugée, les grains d'amidon revêtent un aspect fort différent, suivant qu'on les prélève à l'une ou l'autre extrémité du tubercule. Du côté où l'action de la force centrifuge se fait le plus sentir, les stries s'estompent plus ou moins, jusqu'à disparaître complètement.

Avec un éclairage d'intensité voulue³, on découvre sur le pourtour de chaque grain des plissements internes de la couche périphérique.

Toutefois, il n'existe aucun changement, ni dans la forme, ni dans la teinte des croix de polarisation.

¹ Il est curieux de signaler qu'en plusieurs essais les principes actifs des microzymases ont été réunis à la partie supérieure des liquides centrifugés. Cela tient probablement à la viscosité des produits utilisés.

² Nous étudions plus loin l'action de la force centrifuge sur les êtres unicellulaires.

³ Cette intensité est très exactement obtenue par l'emploi de deux nicols en position parallèle, avec obj. 7, *Leitz* et ocul. 2.

Le protoplasme, les noyaux, les vacuolides sont entraînés par la force centrifuge d'autant plus vite que les cellules sont plus hydratées.

Il faut des vitesses de 1.200 tours au moins pour détruire à jamais les courants du protoplasme. Mais les mouvements browniens continuent à se manifester dans les zones pariétales protoplasmiques pendant plus de dix-huit heures encore.

Non seulement les chromatophores sont entraînés par la centrifugation, mais aussi divisés en un grand nombre d'éléments. Ils apparaissent alors comme s'ils étaient de simples agrégats de chloroleucites réunis par une gaine protoplasmique.

III. — ÉLÉMENTS SEXUELS. — GRAINES ET ŒUFS

La centrifugation agit sensiblement de même sur les graines et les œufs.

*
**

Les graines (Fèves, Haricots, Courges, Fléoles, etc.) perdent du poids et voient leurs téguments se foncer. Il convient d'attribuer ces modifications au passage précédemment signalé des liquides cellulaires à travers les membranes.

On constate la même perte de poids pour les œufs d'insectes ou d'oiseaux.

*
**

Centrifugées pendant vingt-quatre heures ou quarante-huit heures au maximum, les graines sont accélérées dans leur germination.

Traitées plusieurs jours, elles sont au contraire fort retardées.

Il est excessivement difficile de faire germer des graines dans une centrifugeuse en marche. Et les plantes ainsi obte-

nues sont considérablement moins avancées au bout d'un certain temps que les témoins, et tout à fait rabougries.

Les choses se passent de la même façon pour les œufs (Vers à soie, Araignées, Ascaris, etc.).

*
* *

Des études entreprises sur quatre générations de Vers à soie centrifugés, il se dégage :

1° Que le pourcentage des œufs parthénogénétiques est supérieur à la normale. Et même, lorsqu'ils n'éclosent pas, la translucidation de ces œufs par notre procédé montre combien leur développement peut aller loin. Il varie, en effet, depuis la formation de la bandelette germinative jusqu'à l'ébauche du ver.

2° Que les œufs fécondés dont les ascendants furent centrifugés donnent beaucoup plus de mâles que les témoins.

Si on compare les œufs soumis à la centrifugation avec des œufs déshydratés, on constate que, pour ces derniers, le nombre des mâles est intermédiaire entre celui des œufs normaux et celui des œufs soumis à la force centrifuge.

*
* *

Les œufs pondus par des papillons centrifugés, eux-mêmes issus d'ascendants semblablement traités, ont des dimensions inférieures aux témoins.

Les vers nés de ces œufs grimpent mal. Leurs cocons déposés au ras du sol sont de très faible volume.

*
* *

Des accidents nous privèrent des résultats cherchés sur des œufs diversement orientés dans la centrifugeuse.

Faute de personnel auxiliaire, plusieurs lots d'œufs de poissons périrent. Lots ainsi composés :

Sperme centrifugé + ovules normaux;
Sperme normal + ovules centrifugés;
Sperme centrifugé + ovules centrifugés;
Témoins.

*
**

Les spermatozoïdes, même ceux d'animaux supérieurs, supportent des centrifugations très rapides sans être détruits. On constate simplement, tantôt un ralentissement de l'activité des flagelles, tantôt un arrachement de ces appendices.

*
**

Les plantes issues d'ovules normaux fécondés par un pollen fortement centrifugé n'offrent pas de différences appréciables avec les témoins.

Mais, si l'on fait germer du pollen dans un milieu artificiel (eau sucrée), on voit qu'après une longue centrifugation (six jours à 500 tours), les grains éclatent, comme lorsqu'on place des grains normaux dans de l'eau pure.

IV. — LES NYMPHES

Les nymphes nous ont permis de voir qu'un animal pouvait continuer à vivre, se développer, malgré une grosse perte de liquides et de principes du bioprotéon.

En effet, lorsqu'on centrifuge des chrysalides de Vers à soie, on recueille un liquide clair, citrin, ne contenant pas de vacuolides, pas de sucre, mais beaucoup d'albumines et d'oxydases.

Les larves ainsi traitées sont complètement télescopées du

côté postérieur, mais vivent encore. Par divers artifices, nous les avons même conservées jusqu'au stade papillon.

Les insectes parfaits issus de ces larves sont ratatinés, avec des ailes plissées, frangées, et meurent après deux ou trois jours.

Les nymphes privées de plus de un quart de centimètre cube de liquide ont besoin, pour arriver au stade papillon, d'être maintenues dans une enceinte humide..., les témoins placés sous une cloche sans vapeur d'eau terminent très rarement leur évolution. Si, par hasard, ils parviennent au stade papillon, ils meurent avant d'avoir présenté la plus petite manifestation de vie active.

Signalons enfin un phénomène curieux observé chez les larves nées de parents centrifugés : leurs cocons se trouvent fixés près du sol et non sur les branches¹ comme les cocons normaux.

*
**

Après avoir étudié l'action de la force centrifuge sur la cellule, les œufs, les nymphes, voyons ses effets sur l'adulte.

V. — ADULTES

INVERTÉBRÉS

Une centrifugation, même rapide, ne détruit pas les infusoires.

En effet, nous avons examiné des Vorticelles après une heure de rotation à 2.900 tours, et la colonie apparaissait comme simplement tassée; sa masse formait un véritable tissu de cellules polyédriques, les pédicelles, arrachés en faible pro-

¹ Lors de la montée, nous disposons autour de la claie des séries de branches mortes.

portion, remuaient normalement. Bientôt, d'ailleurs, les individus s'isolèrent, doués d'une forte motilité.

Aucune altération ne fut constatée chez les Stentors et les Paramécies vertes, ni non plus chez un rhabdocèle, le *Convoluta Roscoffensis*.

Cette notion que des êtres aqueux centrifugés dans leur milieu ne sont pas macroscopiquement ni microscopiquement altérés est à retenir.

■
* *

Les mouches, les moustiques, ne sont nullement incommodés par les vitesses entre 2 et 3.000 tours.

Au bout d'une demi-heure, aucun trouble n'est à signaler chez eux ni pour la marche ni pour le vol.

Les fourmis, les hannetons présentent une activité normale et ne sont troublés dans aucune de leurs fonctions externes.

Les mollusques (*Mytilus edulis*, *Venus verrucosa*) restent hermétiquement clos dans des appareils tournant à 2.000 tours.

Placés dans une position telle que leurs valves soient jointes par la force centrifuge, ils parviennent à les écarter si la rotation ne dépasse pas 200 tours.

*
* *

Nous avons signalé déjà que les papillons de Bombyx nés d'œufs et de chrysalides centrifugés éclosent plus vite que les témoins.

Mais si l'on poursuit l'expérimentation, et surtout si on la reprend cinq à six jours avant le moment où le cocon doit être perforé, on obtient des papillons incapables de déchirer leur enveloppe. Dans plus de deux cents cocons examinés, nous avons rencontré toutes les phases, depuis celle où l'insecte passe la tête au travers de la paroi sans pouvoir dégager son corps, jusqu'à celle où il pond, s'il est femelle, contre une

enveloppe invulnérable, ou même meurt dans de vains efforts, avant l'expulsion des œufs. Le papillon cependant n'est pas malade : il suffit d'ouvrir le cocon, pour le voir sortir, s'accoupler, évoluer comme ses congénères, mais aussi mourir plus vite qu'eux.

Seul le liquide destiné à écarter les fils dut lui manquer.

Sa vie est d'autant plus courte que la centrifugation fut plus longue.

Soumettre des papillons éclos à la force centrifuge présente peu d'intérêt. Leurs jours sont trop comptés pour pouvoir appliquer une force lente d'assez longue durée.

Celle-ci suffit toutefois à provoquer une accélération de la ponte.

De grandes vitesses font expulser très rapidement les œufs.

Mais ce sont là des actions mécaniques de pression, pour ainsi dire, bien moins intéressantes pour nous.



Plus un animal est riche en eau, plus il peut voir ses phénomènes osmotiques accélérés, plus les modifications deviennent profondes.

VERTÉBRÉS

La complexité des troubles imputables à la centrifugation augmente à mesure qu'on utilise des animaux de plus en plus supérieurs.

Chez les vertébrés, l'orientation du sujet dans l'appareil exerce une influence considérable sur les accidents observés.

Pour la grenouille, par exemple, lorsque la centrifugation n'excède pas une heure à 500 tours ou vingt minutes à 1.300 tours, les sujets à tête centrale sont bien plus malades que les sujets à tête périphérique.

Au sortir de l'appareil, les deux types d'animaux sont affaiblis. Ils restent immobiles. Mais bientôt les grenouilles à « tête

périphérique » reviennent à la vie normale. Elles réagissent au plus léger attouchement, remettent leurs pattes en bonne position, nagent.

Tandis que les grenouilles à « tête centrale » restent complètement insensibles aux excitations. On peut placer leurs pattes des plus étranges façons, sans qu'elles les remuent ; mises sur le dos, elles y restent. Dans l'eau, elles prennent l'allure de grenouilles curarisées, demeurant dans une station presque verticale. Leur respiration est excessivement faible. Les mouvements du plancher buccal restent normaux.

Dans les deux cas, les cœurs sont ralentis, mais très amples pour les sujets à têtes périphériques et de faible amplitude pour les autres.

Qu'on les considère sur terre ou dans l'eau, les grenouilles à tête périphérique présentent des mouvements giratoires, de sens inverse à celui de la centrifugeuse. On ne peut établir de parallèle avec les sujets à tête centrale, ces derniers, disons-nous, ne remuant pas de longtemps au sortir des appareils.

Si l'on soumet des grenouilles à la force centrifuge pendant vingt-quatre ou trente-six heures à 250-300 tours, les positions « tête périphérique » et « tête centrale » sont pénibles, puisque, laissés libres de s'orienter, les animaux se placent tangentiellement le dos tourné vers l'axe de l'appareil et le train antérieur dans le sens de la rotation.

*
**

Remarquons encore à côté des troubles produits chez la grenouille par telle ou telle position, des points communs aussi bien à celles centrifugées dans un sens qu'à celles centrifugées dans un autre.

La peau est rouge du côté périphérique. Il ne s'agit pas d'hémorragies : aucun globule n'a passé au travers des vaisseaux. Ainsi, lorsque la force agit principalement sur la langue, malgré la couleur framboisée intense de cette dernière,

on ne trouve pas trace de sang extravasé. Les capillaires sont simplement très dilatés.

La numération des hématies indique une grosse élévation numérique dans le train le plus soumis à la centrifugation. L'autre extrémité est, elle aussi, un peu plus riche en globules que normalement.

Il faut donc admettre qu'il y a concentration du sang.

Cette idée semble justifiée par l'étude des viscosités comparées (appareils Clément), et par le fait que les tissus du côté le plus atteint sont inondés ... le sérum s'est échappé..., les muscles apparaissent comme friables..., blanchâtres (l'examen microscopique confirme cette façon de voir).

Rien d'étonnant après ce que nous avons constaté sur les membranes, sur la cellule.

*
* *

Orientées dans un sens ou dans l'autre, les grenouilles centrifugées plusieurs jours, même sur du coton maintenu humide, se dessèchent petit à petit jusqu'à la momification complète.

*
* *

N'étant pas arrivé à construire un appareil permettant de soumettre plusieurs heures de suite des poissons à la force centrifuge, nous ne pûmes obtenir que peu de résultats avec ces animaux, à savoir : l'engourdissement de petits Vairons après vingt minutes de centrifugation.

*
* *

Désireux d'étudier des êtres plus perfectionnés encore, nous avons centrifugé quelques mammifères (cobayes, rats, lapins).

Cinq ordres d'expériences furent institués sur de tels sujets :

1° L'animal est centrifugé la tête placée dans le sens de la rotation;

2° Dans le sens opposé;

3° La tête périphérique;

4° La tête centrale;

5° La tête et la queue simultanément périphériques, c'est-à-dire le centre de l'appareil passant par le milieu du corps.

1° Tête dans le sens de la rotation. — Les constatations sont identiques chez les divers mammifères, mais, par suite de son intensité de réactions, le rat donne d'excellents résultats. Il est spécialement à conseiller.

Avec une vitesse de 800 à 900 tours, l'animal est abruti en trois minutes. Il titube, écarte de plus en plus les pattes antérieures pour augmenter sa cage thoracique, ou sa stabilité, présente de la dyspnée, ainsi qu'une déviation conjuguée de la tête et des yeux (son regard fuit l'axe de l'appareil). Il présente des mouvements irrésistibles en baril; de gauche à droite.

Après huit minutes, l'anesthésie est complète. Le réflexe oculaire disparaît, le cœur devient irrégulier, très lent, puis la respiration présente un rythme rappelant celui de Cheyne-Stokes.

Après vingt minutes, c'est la mort.

L'autopsie, immédiatement pratiquée, ne montre aucune lésion macroscopique des organes; pas de déchirures du foie, des poumons, des reins ou de la vessie; pas de fractures.

Le cœur en diastole renferme un sang non pas asphyxique, mais brunâtre, se coagulant très vite. Les ventricules restent insensibles, même aux excitations violentes (piqûre, pincement), tandis que les oreillettes donnent quelques battements.

Il n'y a point d'infarctus pulmonaire. On constate une sérosité péritonéale abondante. La matière cérébrale n'est pas écrasée. Mais on remarque une hémorragie cérébelleuse violente.

2° Tête opposée à la rotation. — La marche des phénomènes est identique au cas précédent, sauf que la déviation conjuguée de la tête et des yeux se fait en sens inverse, et que les mouvements irrésistibles en baril s'exécutent de droite à gauche.

L'autopsie donne les mêmes résultats que pour la première position.

Si nous arrêtons la centrifugation lors des mouvements en baril, l'animal se remet assez vite. Quelques heures plus tard, il va, mange, boit comme si rien n'était.

*
**

Après avoir centrifugé des sujets la tête dans le sens de rotation, nous les avons mis en position inverse dès l'apparition des mouvements irrésistibles.

Nous pensions que ces deux opérations, effectuées le même temps, dans des conditions identiques, se contrebalanceraient. Il n'en fut rien.

L'animal marche en titubant, puis est brusquement entraîné du côté de la lésion primitive et fait de longues pauses sur le dos. Il ne se relève qu'aidé. Laissé au repos, il revient encore à lui.

Il n'y a donc pas de lésions irréparables, mais des lésions fugaces.

L'animal, brusquement étranglé, après centrifugation, présente un cerveau hémorragique dans les parties postérieures; il s'agit donc d'une stase sanguine de ces régions.

3° Tête périphérique. -- Après trois minutes de centrifugation à 800 ou 900 tours, un cobaye, un rat, un lapin sont pris de mouvements irrésistibles non plus en baril, mais en aiguille de montre, de direction opposée à la rotation. Les mêmes faits ont été déjà constatés chez la grenouille.

Comme chez la grenouille aussi, il existe une concentration

sanguine avec grosse augmentation globulaire du côté périphérique surtout. Le cœur présente des mouvements très amples et très lents.

Les yeux sont injectés, les vaisseaux de l'oreille dilatés au point de donner une teinte rouge aux téguments. En une demi-heure, ces phénomènes cessent : l'animal rampe, essaye de marcher, puis y parvient aisément.

L'autopsie révèle des phénomènes congestifs du cerveau, principalement du métencéphale où l'on rencontre parfois des hémorragies.

4° Tête centrale. — Les animaux ainsi centrifugés n'offrent aucun mouvement irrésistible. Ils sont abattus, dans un état de relâchement musculaire, ne réagissant pas à la piqure, traînant leur train postérieur et gardant la tête plongée entre les pattes de devant. Chez le lapin, les oreilles apparaissent livides par transparence, un frottement, même énergique, ne les ramène pas à leur coloration normale.

Si l'opération a duré seize minutes en moyenne à 800 tours, l'animal ne se ressaisit pas; au contraire, son état empire et il meurt.

Au point de vue histologique, mêmes résultats qu'en « tertio », moins la congestion cérébrale.

5° Tête et queue simultanément périphériques. — Après cinq à six minutes d'une rotation à 800 tours, on constate une déviation conjuguée de la tête et des yeux en sens inverse du mouvement. L'animal dodeline de la tête, présente des troubles locomoteurs avec balancements alternatifs de droite à gauche et une injection de la face.

Son train postérieur offre une insensibilité marquée.

Il existe une anesthésie thoraco-abdominale complète.

A l'autopsie, la congestion cérébrale est bien moins intense qu'en « tertio ».

*
* *

Dans tous les cas, on constate une augmentation de la pression sanguine, une accélération respiratoire au début¹, avec dyspnée, Cheyne-Stokes; puis, un ralentissement très marqué du cœur.

*
* *

Les troubles nerveux signalés sont analogues à ceux produits par des lésions des pédoncules :

Cérébelleux moyens dans le cas du baril;

Inférieurs dans le cas des mouvements en aiguilles de montre.

Ces troubles, nous l'avons dit, sont dus à des stases sanguines.

Comment se localisent-elles aux pédoncules? Probablement parce qu'ils sont un point faible de l'axe nerveux.

En effet, tandis que les nerfs rachidiens consolident la moelle, l'empêchent de s'écraser contre telle ou telle paroi, tandis que les replis du cerveau consolident l'encéphale, il doit exister, à côté de ces lieux particulièrement résistants, des endroits de moindre solidité, dont seraient les pédoncules. Ceci est d'ailleurs une simple hypothèse.

*
* *

Des courtes centrifugations pratiquées sur nous-mêmes, il résulte que :

1° Orienté dans le sens de la rotation, les yeux ouverts, un homme ne peut résister que quelques secondes à la force qui l'entraîne à une vitesse de 30 tours par minute;

2° Orienté contrairement à la marche de l'appareil, il peut

¹ La pression atmosphérique est étrangère à ces phénomènes, les paniers de la centrifugeuse communiquant librement avec l'extérieur.

rester debout plus longtemps en exécutant une sorte de piétinement sur place ;

3° On a grand'peine à garder les yeux fermés, tant on redoute d'être projeté contre un obstacle ;

4° Couché pour obtenir plus d'adhérence au plateau, la position tête en avant devient presque aussitôt congestive.

La position tête en arrière ne produit rien de sensible, supportée pendant la même durée que l'orientation tête en avant.

VI. — LES VÉGÉTAUX

INFÉRIEURS

La force centrifuge modifie profondément la forme des cultures microbiennes.

Avec une vitesse de 300 à 400 tours, il est aisé d'obtenir des colonies développées, non plus en surface, comme normalement, mais en profondeur, présentant l'aspect d'un clou fiché dans la gélatine.

Une culture de *Pénicillium* orientée de diverses façons prend les formes les plus compliquées.

Les espèces traitées diminuent de taille pendant quelques générations, pour revenir ensuite à leur état normal.

La chose apparaît particulièrement nette avec des cultures pures de *B. subtilis*. Successivement, on peut voir des types nouveaux apparaître de plus en plus petits, jusqu'au point de simuler des cocci. Ces derniers, laissés au repos, puis repiqués dans un milieu identique, reviennent à leur état normal.

Nous avons eu des préparations renfermant plusieurs de ces stades.

La force centrifuge exerce son action non seulement sur les microbes, mais aussi sur leurs sécrétions. La puissance du

variolo-vaccin est plus grande ou plus faible suivant l'extrémité du récipient considérée. Des produits sont sans doute entraînés, rendant les couches profondes beaucoup plus actives que les superficielles. Ces dernières gardent cependant un certain pouvoir. Peut-être serait-ce là un procédé d'atténuation des virulences.

Le pouvoir des solutions de levures de vin est augmenté par la centrifugation, à condition d'employer uniquement les couches profondes.

Dans certains cas, cette méthode peut servir pour stériliser. Par exemple, du vin piqué, soumis à une force centrifuge violente, n'est plus contaminé après décantage; même remarque pour la bière.

*
**

On ne remarque aucun changement, ni macro-, ni microscopiques chez les Euglènes et les Diatomées centrifugées même à 3.000 tours.

A faible vitesse, les Euglènes parviennent même à sortir du liquide et à se coller aux parois du tube où elles sont, malgré la force qui les entraîne.

Les plantes centrifugées pendant leur poussée sont atrophiées sans poils absorbants pour ainsi dire. En leur donnant beaucoup d'eau on les améliore un peu.

Des coupes pratiquées dans leurs organes montrent des cellules ratatinées, plissées, la membrane semble trop grande pour le contenu bioprotéonique. Ces altérations sont visibles, principalement sur les plantes centrifugées trois jours au moins à 300 tours.

Rien de spécial ou point de vue noyau, vacuolides ou mitochondries, les éléments sont entraînés comme dans la cellule seule.

Si le noyau reste à sa place, il se produit quelques troubles mitotiques (allongement du fuseau dans le sens radial).

*
**

Il était intéressant de savoir ce que produirait la force centrifuge sur des plantes orientées : les unes, racines périphériques; les autres, racines centrales.

Pour réaliser de semblables expériences, les « Pixies plantes » nous furent précieuses. Germant en vingt-quatre heures, elles atteignent leur complet développement en deux jours, deux jours et demi. On peut donc, grâce à elles, agir sur des individus adultes pendant presque toute leur croissance.

Des essais tentés dans la position « racines périphériques », il ressort un accroissement marqué du système souterrain par rapport au système aérien.

De ceux tentés dans la position « racines centrales, » il appert, comme l'a démontré Knight, que la force centrifuge finit par annuler les effets du géotropisme.

Il va sans dire qu'une centrifugation agissant sur une plante placée de façon à ce que les racines soient ou dans le sens du mouvement, ou dans le sens opposé, ne donne rien autre qu'une courbure marquée du côté où agit la force.

CHAPITRE IX

PHYSIOLOGIE GÉNÉRALE ET MÉCANISME D'ACTION

Les expériences précédentes prouvent que l'étude des effets produits par la centrifugation est essentiellement du domaine de la physiologie générale, puisque, dans bien des cas, ils sont comparables à la fois chez les animaux et les végétaux.

*
**

De nombreux travaux antérieurs aux nôtres relatent combien les œufs et les graines sont modifiés dans leur constitution par la force centrifuge.

Nos études sur les solutions, les membranes, les cellules, expliquent ces perturbations.

Convenablement appliquée, la centrifugation rompt l'équilibre cellulaire normal en activant les échanges osmotiques et en modifiant la concentration du bioprotéon.

Nous avons montré aussi que les œufs et les graines peuvent être accélérés dans leur développement par la force centrifuge, ou retardés s'ils sont trop longtemps soumis à son influence, que les organismes animaux ou végétaux issus de produits centrifugés sont plus petits, moins lourds, comparés aux témoins, qu'il existe enfin chez tous les êtres élevés en organisation, une concentration des milieux intérieurs, une

perturbation des principales fonctions (circulation, nutrition) susceptibles de produire des anomalies morphologiques externes ou internes.

*
**

Comment naissent tant de perturbations?

Est-ce par simple pression?

Non-seulement une pression exercée par d'autres moyens ne donnera pas les mêmes résultats, mais les organismes ainsi traités seront détruits.

À côté de la pression bien spéciale obtenue par les centrifugeuses intervient un autre facteur.

Tout porte à croire qu'il s'agit de déshydratation, d'essorage des tissus. En effet :

1° Les organismes peu hydratés ne sont pas atteints par la force centrifuge (Hanneton). Ceux renfermant au contraire, un gros pourcentage d'eau, sont fortement modifiés (vertébrés).

2° Les êtres aquatiques centrifugés dans leur élément ne sont pas ou peu troublés (Vorticelles, Paramécies, Euglènes, Poissons, spermatozoïdes, etc.)

3° Les papillons ne peuvent percer leurs cocons faute de liquide pour dilacérer les fils.

4° L'hyperconcentration du sang, l'augmentation du nombre des globules rouges ou des principes cellulaires, indiquent des humeurs diminuées.

5° Suffisamment prolongée, la centrifugation dessèche les grenouilles plus complètement encore que les solutions salines employées par Claude Bernard.

6° De belles recherches de Raphaël Dubois, démontrèrent, voici longtemps, que les anesthésiques généraux agissent comme déshydratants. Or, dans une série d'expériences, nous avons constaté une concordance entre les résultats obtenus par la force centrifuge et les vapeurs d'anesthésiques.

Des œufs sont accélérés dans leur développement par l'éther

ou le chloroforme. Les larves soumises à ce traitement donnent un pourcentage de sexes voisin à celui fourni par la force centrifuge.

Bien entendu, ces mêmes corps augmentent les concentrations des liquides bioprotéoniques.

Si les phénomènes dus à la centrifugation sont plus intenses, c'est parce que produits plus lentement, d'une façon plus progressive. Avec les anesthésiques, on parviendrait probablement au même résultat si leur toxicité n'était à redouter.

*
**

En plus de cette action, dans bien des cas, la pression intervient directement (agglomération des globules, des principes de la cellule, des vorticelles, etc.)

Mais il est curieux de voir des forces aussi intenses agir sans amener une destruction irréparable des tissus...

D'ailleurs, dans l'industrie même, on a signalé depuis longtemps l'action toute différente desessoreuses et des presses (par exemple, les premières n'abîment pas les soies que les secondes font déteindre à puissance moindre).

*
**

Du long exposé de nos travaux, il semble donc bien résulter que les troubles consécutifs à la centrifugation des êtres vivants (animaux et végétaux) sont dus à deux facteurs :

La déshydratation, l'essorage progressif du bioprotéon, d'une part ; sa compression (sous une forme toute spéciale) de l'autre.

CHAPITRE X

BIBLIOGRAPHIE

1. ANDREWS. Die Wirkung der Centrifugalkraft auf Planzen (*Jahr. f. wiss. Bot.*, XXXVIII, 1, 40, 1 pl., 3 fig., 1902).
2. *Année biologique.*
3. BANTA (Arthur-M.), and GORTNER (Ross-Aiken), 1915, Accessory appendages and other abnormalities produced in amphibian larvae through the action of centrifugal force (*Journ. exp. Zool.*, vol. XVIII, p. 433-450, 3 pl.).
4. BAUDOUIN (A.) et FRANÇAIS (H.), 1913, Un nouveau tube à centrifuger (tube à fond plat et mobile) (*C. R. Soc. Biol. Paris*, t. LXXIV, p. 347-349, 1 fig.).
5. BEEBE (S.-P.) and BUXTON (B.-H.), 1905, Some New Laboratory Apparatus. *Amer. Journ. Physiol.*, vol XIV, p. 7-11, 3 fig. (*Centrifuge, drying apparatus, electric water bath.*).
6. BEZANÇON et DE JOUG, *Traité de l'examen des crachats*, Masson, Paris, 1913.
7. BIERENS DE HAAN (J.-A.), Ueber die Entwicklung heterogener verschmelzungen bei Echiniden (*Arch. Entw. Mech.*, XXXVII, 420-432, 3 fig.).
8. — Ueber Homogene und heterogene Keimverschmelzungen bei Echiniden (*Arch. Ent. Mech.* XXXVI, p. 473-536, 35 fig.).
9. BOVERI (Th.), 1910, Ueber die Teilung centrifugierter Eier von *Ascaris megalcephala* (*Arch. Entw. Mech.*, Bd. 30, Teil, 2 p., 101-125, 32 fig.).
10. BREUER (J.) und KREILD (A.), 1898, Ueber die scheinbare Drehung des Gesichtsfeldes während der Einwirkung einer Centrifugalkraft (*Arch. ges. Phys.*, Bd. 70, p. 494-511).

11. BROWNE, (Ethel-Nicholson), Effects of pressure on Cumingia eggs (*Arch. Entw. Mech.*, XXIV, 243-254, 50 fig.).
12. — The effects of centrifuging the spermatocyte cells of Notonecta with special reference to the mitochondria (*Journ. exp. Zool.*, XVII, 6 fig.).
13. CONKLIN (Edwin-G.), 1910, The effects of centrifugal force upon the organization and development of the eggs of fresh water Pulmonates (*Journ. exp. Zool.*, vol. IX, p. 417-454, 45 fig.).
14. — 1910, Developmental Changes in Egg Substances (*Amer. Soc. Zool. Science, N. S.*, vol XXXI, p. 464.) (Centrifuged eggs. Normal development after abnormal distribution of ooplasmic substances).
15. DAVENPORT (C.-B.), 1897, *Experimental morphology*. Part. I : Effect of chemical and physical Agents upon Protoplasm. London, Macmillan, 8, 294 p. 9 sh (Rev. by J. P. Mc Murrich, *Science, n. s.*, vol. XXI, n° 128, p. 923-924. By E. A. Andrews, *Amer. Natur.*, vol. XXI, n° 363, March, p. 212-213).
16. DEDERER, Pressure experiments on the egg of cerebratulus lacteus (*Arch. Entw. Mech.*, XXIX, 225-242, 7 fig.).
17. GARBOWSKI, Tad. Bericht über neue cytologische experimente am Seeigellei (*Bull. Ac. Sc.*, Cracovie, p. 95-110, 8 fig.).
18. GIRGOLOFF, Kompression versuche am befruchteten ei der Ascaris megalcephala (*Arch. f. Mic. Anat.*, LXXVI, 30 fig.).
19. GRAN (H.-H.), Preservation of samples and quantitative determination of the plankton. Conseil permanent international pour l'exploration de la mer (*Publication de circonstance*, n° 62, Andr. Fred. Host fils, Copenhagen).
20. GURWITSCH (Alex.), Ueber die Zerstörbarkeit des protoplasmas in Echinodermenei (*An. Anz.*, XXVIII, 481-487, 1 fig., 1902).
21. — Regulationserscheinungen im Protoplasma (*Trav. Soc. Nat. St. Pétersbourg*, vol. XXVII, fasc. 2; *Zool. et Physiol.*, p. 187-190, 9 fig. (Zerstörung der Plasmastruktur durch Zentrifugieren; Eier vom Seeigel, Frosch, Triton; in einigen Fällen wohl geformte Blastulae erste Entwicklungsvorgänge also unabhängig von mikroskopischen Plasmabau).
22. — 1909, Ueber Prämissen und anstossgebende Faktoren der Furchung und Zellvermerung (*Arch. Zellforsch.*, Bd. 2, p. 495-548, 17 fig.) (Versuche an zentrifugierten Amphibieneiern., 1878).
23. HAMBURGER (H.-J.), La solution saline physiologique (*Centrablatt für Physiologie*, 17 juin 1893).
24. — De l'influence de la respiration sur le volume et la forme des

- globules rouges et des globules blancs du sang (*la Belgique Médicale*, 1897; *Zeitschrift für Biologie*, XXXV, 1897, p. 252 et 280).
25. — Sur la conduite de l'épithélium vésical vis-à-vis de l'urée (Dubois-Reymond's. *Arch. f. Physiol.*, 1898, p. 9).
26. — Une méthode pour déterminer la pression osmotique de très petites quantités de liquide (*Biochemische Zeitschrift*, I, 1906, p. 259).
27. — Sur la nature de la formation de la précipitine (*Académie néerlandaise des Sciences*, Amsterdam, 26 mai 1906).
28. — Sur l'influence des solutions salines sur le volume des cellules animales (Dubois-Reymond's, *Arch. f. Physiol.*, 1898, p. 317 et 1899, n° 431).
29. — Sur la résistance des globules rouges. Analyse des phénomènes (*Journ. de Phys. et Path. gen.*, 1900, p. 889).
30. — 1907, Anwendung der Centrifugalkraft im physiologischen Laboratorium (7. Internat. Physiol. Congr. Heidelberg.) *Zentralbl. Physiol.*, Bd. 21, p. 470; *Arch. Intern. Physiol.*, vol. V, p. 44; *Arch. Fisiol.*, vol. V, p. 59).
31. HÉDIN, l'Hématocrite (*Pflüger's Archiv*, LX, 1895, p. 360).
32. HEGNER (R.-W.), 1909, The Effects of Centrifugal Force upon the Embryonic Development of some Chrysomelid Beetles. 11th. Rep. Michigan. *Acad. Sc. (Darwin, Centenary Public)*, p. 123-125; The Effects of Centrifugal Force upon the Eggs of Some Chrysomelid Beetles, *Journ. exper. zool.*, vol. VI, p. 507-552, 24 fig.).
33. HERTWIG (O.), 1897, Ueber einige am befruchteten Froschei durch Centrifugalkraft hervorgerufene Mechanomorphosen (*Sitz-Ber. Akad. Wiss. Berlin*, nos 2, 3, p. 14-18; *Abstr. Journ. R. micr. Soc. London*, I, 97 Pt. 4, p. 269; *Nat. Rundschau*, Bd. 12, n° 18, p. 226-227; Der holoblastische Typus lässt sich durch den äusseren Eingriff ewissermassen in den meroblastischen Typus umwandeln).
34. — 1899, Beiträge zur experimentellen Morphologie und Entwicklungsgeschichte. Ueber einige durch Centrifugalkraft in der Entwicklung des Froscheies hervorgerufene Veränderungen (*Arch. mikr. Anat.*, Bd. 53, p. 415-444, 2 Taf.).
35. — 1904, Weitere Versuche über den Einfluss der Zentrifugalkraft auf die Entwicklung tierischer Eier (*Arch. mikr. Anat.*, Bd. 63, p. 643-657; 1 Taf., 2 fig.).
36. HOGUE (Mary-J.), 1910, Ueber die Wirkung der Centrifugalkraft auf die Eier von *Ascaris megalocephala* (*Arch. Entw. Mech.*, Bd. 29, p. 109-145, 42 fig.).

37. KATHARINER (L.), 1904, Schwerkraftwirkung oder Selbstdifferenzierung (*Arch. Entw. Mech.*, Bd. 18, p. 404-414, 1 fig.).
38. KING (Elen-Dan), The effects of compression (*Arch. Entw. Mech.*, XXI, 1906).
39. KNIGHT, *Selection from the physiological and horticultural papers published by the A. Knight*, 1841.
40. KONOPACKA (B.), 1908, Die Gestaltungsvorgänge der in verschiedenen Entwicklungsstadien zentrifugierten Froschkeime (*Bull. intern. Acad. Sc.*, Cracovie, 1908, p. 689-741, 3 pl.).
41. LE BRY DE BRUIN, Sur les solutions salines (*Recueil des travaux chimiques des Pays-Bas*, t. XIX, 1900 et t. XXIII, 1904).
42. LILLIE (Frank-R.), 1908, On the Specific Gravity of the Constituent Parts of the Egg of Chaetopterus and the Effect of Centrifuging on the Polarity of the Egg. (*Amer. Soc. Zool.*, Science, n. s., vol. XXVII, p. 905-906. (Polar and concentric organisation of ground substance determining axis of development. Only temporarily distorted by centrifuging).
43. — 1909, Karyokinetic Figures of Centrifuged Eggs; an Experimental Test of the Center of Force Hypothesis (*Biol. Bull.*, vol. XVII, p. 101-119, 7 fig.).
44. — 1909, Polarity and Bilaterality of the Annelid Egg. Experiments with Centrifugal Force (*Biol. Bull.*, vol. XVI, p. 54-79, 9 fig.).
45. — 1909, Karyokinetic Figures of Centrifuged Egg; an Experimental Test of the Center of Force Hypothesis (*Biol. Bull.*, vol. XVII, p. 101-119, 7 fig.).
46. LYON (E.-P.), 1906, Some Results of Centrifugalizing the Eggs of Arbacia (*Amer. Journ. Physiol.*, vol. XV, p. 21-22. (Separation of egg material into 4 layers. Abnormalities of pigmentation in the pluteus).
47. — 1907, Results of Centrifugalizing Eggs. I. The specific Gravity of Eggs and the Changes in Specific Gravity Occuring during Development. II. Effects of Centrifugalizing Unfertilized Eggs on their Development (*Arch. Entw. Mech.*, Bd. 23, p. 151-173, 3 fig.).
48. Mc GLENDON (J.-F.), 1909, Cytological and Chemical Studies of Centrifuged Frog Eggs (*Arch. Entw. Mech.*, Bd. 27, p. 247-257, 2 pl.).
49. — Chemical Studies on the Effects of Centrifugal Force on the Eggs of sea-urchin (*Amer. Journ. Phys.*, XXIII, 1909).
50. — 1910, On the Effect of Centrifugal Force on the Frog's Egg (*Arch. Zellforsch.*, Bd. 5, p. 385-393, 9 fig.).

51. — The Development of isolated blastomeres of the Frog's Egg (*Amer. Journ. anat.* X, 423-430, 2 fig.).
52. MEGUSAR (Th.-H.), Einfluss abnormaler gravitätswirung (*Arch. Entw. Mech.*, XXII, 1906).
53. MORGAN (T.-H.), 1902, The Dispensibility of Gravit in the Development of the Toad's Egg (*Anat. Anz.*, Bd. 21, p. 313-316).
54. — 1904, The Dispensibility of the Constant Action of Gravity and of a Centrifugal Force in the Development of the Toad's Egg (*Anat. Anz.*, Bd. 25 A., 94-96).
55. — 1906, The Influence of a Strong Centrifugal Force on the Frog's Egg (*Arch. Entw. Mech.*, Bd. 22, p. 553-563, 2 pl.).
56. — 1906, The Influence of a Strong Centrifugal Force on the Frog's Egg (*Arch. Entw. Mech.*, Bd. 22, p. 553-563, 2 pl.).
57. — 1908, The Effects of a Centrifugal Force on the Eggs of Cumingia (*Amer. Soc. Zool. Science*, n. s., vol. XXVII, p. 446).
58. — 1908, The Location of Embryo-forming Regions in the Egg. *Science*, n. s., vol. XXVIII, p. 287-288. [Cleavage planes displaced by rearrangement of visible substances trough centrifuging, but gastrula pole constantly opposite attachment funnel (micropyle?)].
59. MORGAN (T.-H.) and SPOONER (G.-B.), 1909, The Polarity of the Centrifuged Egg (*Arch. Entw. Mech.*, Bd. 28, p. 104-117, 1 pl., 5 fig.).
60. MORGAN (T.-H.), 1910, Cytological studies of Centrifuged Eggs (*Journ. exper. Zool.*, vol. IX, p. 593-656, 8 pl., 21 fig.).
61. — The Effects of altering the position of the cleavage planes in Egg's with precocosius speafication (*Arch. Entw. Mech.*, XXIX, 205-224, 2 pl.).
62. MORGAN (T.-H.) and LYON (E.-P.), 1907, The Relation of the Substances of the Egg Separated by a Strong Centrifugal Force to the Location of the Embryo (*Arch. Entw. Mech.*, Bd. 24, p. 147-159, 2 pl.).
63. PAYNE (Fernandus), 1909, The Separated Blastomeres of Centrifuged Egg's of Arbacia (*Science*, n. s., vol. XXX, p. 934-935). (Separation of visible materials without influence on production of plutei).
64. SABOURAUD et VERNES (A.), 1910, Nouveau procédé de filtration par centrifugation (*C. R. Soc. Biol.*, Paris, t. LXIX, p. 620-621).
65. SCHMIDT (Ernst-Willy), Das verhalten von Spirogyrazellen nach einwirkung hoher zentrifugalkräfte (*Berichte et deutsch. bot. ges.*, XXXII, 35).

66. SPOONER (Georgina-B.), 1911, Embryological studies with the centrifuge (*Journ. exper. Zool.*, vol. X, p. 23-49, 13 fig.).
 67. THILENIUS (O.), 1905, Eine neue Centrifuge mit hoher Tourenzahl und zuverlässigen Tourenzähler (*Berlin. klin. Wochenschr.*, Jahrg. 42, p. 1593-1595; 3 fig.).
 68. WETZEL (G.), 1904, Zentrifugerversuche an unbefruchteten Eiern von *Rana fusca* (*Arch. mikr. Anat.*, Bd. 63, p. 636-642, 6 fig.).
 69. WHITNEY (David-Day), 1909, The Effect of a Centrifugal Force upon the Development and Sex of Parthenogenetic Egg's of *Hydatina senta* (*Journ. exper. Zool.*, vol. VI, p. 125-146, 1 pl., 5 fig.).
 70. WILLIAM (Theodore-Richard), Note on the Efficiency of Centrifugal Purification (*Reprinted from the Journal of the American Chemical Society*, vol. XXVII, n° 2, February 1905).
 71. — The use of the centrifuge (*Reprinted from the Journal of the American Chemical Society*, vol. XXX, n° 1, January 1908).
-

TABLE DES FIGURES, TABLEAUX, ETC.

Numeros	
1. Tube séparateur de liquides centrifugés	38
2. Appareil à cryoscooper, de l'auteur	40
3. Nouveau flacon à densités.	41
4. Vacuolides de la purpurase	53
5. Vacuolides de la luciférase	54
6. Petit viscosimètre Clément	56
7. Grand viscosimètre Clément	56
8. Plantes artificielles de Leduc (procédé cuivre + sucre) normales.	60
9. Plantes artificielles de Leduc (centrifugées)	60
10. Plantes artificielles de Leduc (procédé au silicate) normales .	61
11. Plantes artificielles de Leduc (centrifugées)	61
12. Plantes artificielles de Leduc (centrifugées)	61
13. Plantes artificielles de Leduc (centrifugées)	61
14. Cellules artificielles normales.	62
15. Cellules artificielles centrifugées	62
16. Cellules artificielles centrifugées.	62
17. Mauvais dispositif pour dialyses.	64
18. Appareil dialyseur à membranes artificielles	65
19. Appareil dialyseur à membranes naturelles	67
20. Grains d'amidon avant et après centrifugation	73
21. Epiderme du bulbe d'Oignon normal	75
22. Epiderme du bulbe d'Oignon centrifugé	75
23. Feuilles d'Elodea centrifugées	77
24. Cellules de Spirogyre	79
25. Influence du pollen centrifugé sur la végétation	86
Germination normale de Courge (<i>couleur</i>)	89
Germination centrifugée de Courge (<i>couleur</i>)	89
26. Germinations diverses de Courges	90
27. Germination des Fléoles	91
28. OEufs de Vers à soie centrifugés	97
29. OEufs de Vers à soie normaux	98
30. OEufs de Vers à soie parthénogénétiques	99
31. OEufs de Vers à soie parthénogénétiques.	100
32. Influence de la durée de la centrifugation sur les œufs	104

Numéros

33. Influence de la durée de la centrifugation sur les œufs d'Araignée	106
34. Courbes comparatives des effets de la centrifugation et de l'anesthésie	109
35. Œufs d' <i>Ascaris mégalocéphala</i>	112
36. Evolution comparative des œufs d' <i>Ascaris</i> (diagramme) . . .	114
37. Courbes relatives à l'évolution des œufs d' <i>Ascaris</i> centrifugés .	115
38. Larves de <i>Bombyx</i> centrifugées	121
39. Larves de <i>Bombyx</i> restées prises dans les cocons	123
40. Dispositif de déshydratation des cocons	126
41. Dispositif de déshydratation des cocons	126
42. Dispositif de déshydratation des cocons	126
43. Eclotions par jour des papillons de <i>Bombyx</i> centrifugés à l'état larvaire	128
44. Durée d'existence de ces papillons	129
45. Taille des œufs normaux de Vers à soie	130
46. Taille des œufs centrifugés	131
47. Le micromètre Starett	133
48. Poids des œufs centrifugés	134
49. Divers cocons centrifugés et anesthésiés	136
50. Comparaison d'évolution de divers produits traités ou non . .	137
51. Eclotions par jour d'œufs centrifugés, anesthésiés, etc. . . .	138
52. Tableau relatif au précédent	139
53. Résultats rapportés au pour cent	140
54. Influence de la centrifugation sur les sexes	141
55. Tracés de cœurs normaux de Grenouilles	149
56. Tracés de cœurs normaux de Grenouilles	149
57. Tracés de cœurs de Grenouilles à tête périphérique	150
58. Tracés de cœurs de Grenouilles à tête centrale	150
59. Schématisation des mouvements irrésistibles	161
60. Appareil Clément pour mesurer les temps	163
61. Tracé respiratoire d'un Lapin (tête dans le sens du mouvement).	164
62. Tracé respiratoire d'un Lapin (tête dans le sens du mouvement).	164
63. Tracé cardiaque d'un Lapin (tête normale)	165
64. Tracé cardiaque d'un Lapin (tête périphérique).	166
65. Tracé cardiaque d'un Lapin (tête centrale)	166
66. Tracé cardiaque d'un Lapin (tête et queue périphériques) . .	166
67. Cultures de Microbes centrifugées	170
68. Evolution de Bacilles centrifugés	172
69. Tableau de quelques vaccinations avec virus centrifugé, etc. .	176

TABLE DES MATIÈRES

AVANT-PROPOS	5
CHAPITRE PREMIER. — Historique des appareils construits	9
Historique des travaux publiés sur la question	14
CHAPITRE II. — Effets de la centrifugation sur les solutions et sur leur passage au travers des membranes	31
CHAPITRE III. — Effets de la centrifugation sur la cellule	69
CHAPITRE IV. — Effets de la centrifugation sur les éléments sexuels, les graines et les œufs	83
CHAPITRE V. — Effets de la centrifugation sur les nymphes	120
CHAPITRE VI. — Effets de la centrifugation sur les animaux adultes invertébrés.	142
Effets de la centrifugation sur les animaux adultes verté- brés	146
CHAPITRE VII. — Effets de la centrifugation sur les végétaux infé- rieurs	169
Effets de la centrifugation sur les végétaux supérieurs. . .	180
CHAPITRE VIII. — Résumé des recherches précédemment décrites.	186
CHAPITRE IX. — Physiologie générale et mécanisme d'action. . .	205
CHAPITRE X. — Bibliographie	209

SECONDE THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

GÉOLOGIE. — *Les formations secondaires de la région lyonnaise.*

BOTANIQUE. — *La digestion chez les plantes carnivores.*

Lu et accepté :

Les Membres du Jury :

R. DUBOIS.

A. RICHE.

J. RAY.

Vu et approuvé :

LE DOYEN DE LA FACULTÉ DES SCIENCES
DE LYON,

C. DEPÉRET.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 11 janvier 1917.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,
P. JOUBIN.

